FORTSCHRITTE
DER
CHEMISCHEN FORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN VON

F. G. FISCHER
WÜRZBURG

H. W. KOHLSCHÜTTER
DARMSTADT

KL. SCHÄFER
HEIDELBERG

SCHRIFTLEITUNG:

H. MAYER-KAUPP
HEIDELBERG

1. BAND, 1./2. HEFT

MIT 92 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
SPRINGER-VERLAG
1949

Fortschr. chem. Forsch.

Preis DM 36.—

Die

„Fortschritte der chemischen Forschung"

erscheinen zwanglos in einzeln berechneten Heften, von denen je vier zu einem Band von etwa 50 Bogen vereinigt werden. Ihre Aufgabe liegt in der Darbietung monographischer Fortschrittsberichte über aktuelle Themen aus allen Gebieten der chemischen Wissenschaft. Hauptgesichtspunkt ist nicht lückenloses Zitieren der vorhandenen Literaturangaben, sondern kritische Sichtung der Literatur und Verdeutlichung der Hauptrichtungen des Fortschritts. Auch wenden sich die Fortschrittsberichte nicht ausschließlich an den Spezialisten, sondern an jeden interessierten Chemiker, der sich über die Entwicklung auf den Nachbargebieten zu unterrichten wünscht. Die Berichterstattung erstreckt sich vorläufig über den Zeitraum der letzten 10 Jahre. Beiträge nichtdeutscher Autoren können in englischer oder französischer Sprache veröffentlicht werden.

In der Regel werden nur angeforderte Beiträge veröffentlicht. Nicht angeforderte Manuskripte werden dem Herausgeberkollegium überwiesen, das über die Annahme entscheidet. Für Anregungen betreffs geeigneter Themen sind die Herausgeber jederzeit dankbar.

Anschriften:

Prof. Dr. F. G. Fischer, (13a) *Würzburg, Röntgenring 11* (Organische Chemie und Biochemie).

Prof. Dr. H. W. Kohlschütter, (16) *Darmstadt, Eduard-Zintl-Institut der T. H.* (Anorganische Chemie).

Prof. Dr. Kl. Schäfer, (17a) *Heidelberg, Plöck 55* (Physikalische Chemie).

Dr. H. Mayer-Kaupp, (17a) *Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24* (Springer-Verlag).

Springer-Verlag

Heidelberg
Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 24 40

Berlin-Charlottenburg 2
Jebensstraße 1
Fernsprecher 32 20 70

Inhaltsverzeichnis.

1. Band 1./2. Heft

Seite

Kohlschütter, Hans Wolfgang, Über die Chemie der Silicone. Mit 6 Textabbildungen 1

Schäfer, Klaus, Probleme der Wärmeleitung in Gasen bei niedrigem Druck und der Energieübertragung an festen Oberflächen. Mit 14 Textabbildungen . . . 61

Edsall, John T., The size and shape of protein molecules. With 14 figures 119

Inhoffen, Hans Herloff, und Ferdinand Bohlmann, Synthesen in der Carotinoid-Chemie seit 1939. Mit 1 Textabbildung 175

Wieland, Theodor, Die Trennung und Bestimmung der natürlichen Aminosäuren. Mit 11 Textabbildungen 211

Craig, Lyman C., Counter-current distribution and some of its applications, I, II, III.
I. The isolation of active principles: Fractionation theory. With 7 figures . 292
II. The concept of purity in biochemistry and methods for proving purity. With 9 figures 302
III. The chemistry of polypeptide antibiotics. With 10 figures 312

Müller, Eugen, Über den Radikalzustand ungesättigter Verbindungen. Mit 20 Textabbildungen 325

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 1—60 (1949).

Über die Chemie der Silicone.

Von

H. W. KOHLSCHÜTTER *.

Mit 6 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht.

Seite

1. Vorbemerkung 1
2. Silicium und Kohlenstoff 3
3. Silicone als molekülbildende Verbindungen und als Krystallverbindungen 6
4. Silicone als sauerstoffhaltige Verbindungen des Siliciums 10
5. Unterteilung der Chemie der silico-organischen Silicone 13
6. Herstellung organo-substituierte Siliciumhalogenide (Ausgangsprodukte für Silicone) 16
7. Hydrolyse und Kondensation 28
8. Typen der niedermolekularen Methyl-poly-silicone 31
9. Spezielle Reaktionen 37
10. Silicone als Werkstoffe 43
11. Silico-organische Stoffsysteme 49
12. Rückblick 51
13. Nachtrag 53

Literatur 55

1. Vorbemerkung.

E. G. ROCHOW hat 1946 die erste zusammenfassende Darstellung der Chemie der Silicone gegeben (*83*). Seither sind viele Berichte erschienen, die sich im wesentlichen auf die Darstellung von ROCHOW beziehen (*36*), (*39*), (*56*), (*97*). In vielen Spezialzeitschriften sind die Besonderheiten der Silicone als Werkstoffe beschrieben worden. Im Auftrag der General Electric Co. hat R. SODER einige technische Daten zusammengestellt und auf die wichtigsten Anwendungsgebiete der Silicone hingewiesen (*102*).

Ausgangspunkt der folgenden Darstellung bildet eine Bemerkung ROCHOWs über den Stand der Silicon-Forschung von 1946 (*83*):

"We have only working hypotheses based upon empirical knowledge and upon inferences. The state of art is roughly equivalent to that of organic chemistry in the year 1860."

Gemessen an den präparativen Fortschritten, an denen ROCHOW selbst großen Anteil hat, und auch gemessen an den Ergebnissen der Strukturuntersuchungen an niedermolekularen sowie an hochmolekularen Siliconen in den letzten Jahren erscheint diese kritische Bemerkung zu bescheiden. Es darf jedoch angenommen werden, daß

* An der experimentellen Nacharbeit einiger Originalmitteilungen beteiligt: H. RÖSSLER, W. SCHEELE, J. SCHAAFHAUSEN, G. JAEKEL, H. SCHIFFERDECKER.

ROCHOW mit seiner Bemerkung einen allgemeiner gültigen Gedankengang ausdrücken wollte, der im Hinblick auf die historische Entwicklung der Chemie silico-organischer Verbindungen verständlich wird.

Die spezielle Chemie der Silicone hat sich aus der Chemie silico-organischer Verbindungen entwickelt (*11*), (*62*). Diese Entwicklung ist, wenn sie in großen Zügen beurteilt wird, über drei Stufen verlaufen.

1. Um 1860 begannen C. FRIEDEL, J. CRAFTS (*25*), später A. LADENBURG (*64*) mit dem experimentellen Nachweis, daß sich silico-organische Verbindungen bilden können.

Beispiel:

$$2\,Zn(C_2H_5)_2 + SiCl_4 \rightarrow 2\,ZnCl_2 + Si(C_2H_5)_4$$

im zugeschmolzenen Rohr.

2. Um 1900 setzten die systematischen Untersuchungen von F. S. KIPPING (*55*) zur Verbesserung der Herstellungsverfahren und zur Vermehrung der Zahl silico-organischer Verbindungen ein.

Beispiel:

$$SiCl_4 + 3\,C_6H_5MgCl \rightarrow (C_6H_5)_3SiCl + 3\,MgCl_2$$

GRIGNARDsche Reaktion in Lösung (*16*), (*50*).

Unter den Reaktionsprodukten der Hydrolyse von Organo-siliciumchloriden wurden Silanole und deren Kondensationsprodukte gesucht und gefunden.

Beispiel:

$$(C_6H_5)_3SiCl \xrightarrow{\text{Hydrolyse}} (C_6H_5)_3SiOH$$

$$2\,(C_6H_5)_3SiOH \xrightarrow{\text{Kondensation}} (C_6H_5)_3Si{-}O{-}Si(C_6H_5)_3\,.$$

3. Um 1940 begannen E. G. ROCHOW (*82*), (*83*), (*85*), (*86*), W. I. PATNODE (*76*) und D. T. HURD (*40*) mit der Anwendung der klassischen Reaktionen zur Herstellung der methyl-substituierten Siliciumhalogenide in größerem Maßstab. Sie entdeckten die ebenfalls für präparative Zwecke geeignete Reaktion

$$2\,CH_3Cl + Si \rightarrow (CH_3)_2SiCl_2$$

im strömenden Gas

und schufen in Zusammenarbeit mit weiteren Forschern (*69*) die Voraussetzungen für die großtechnische Erzeugung von Methyl-polysiliconen durch Hydrolyse und anschließende Kondensation der Methylsilicium-halogenide (*81*).

Beispiele:

I

$$(CH_3)_3SiCl \xrightarrow{\text{Hydrolyse}} (CH_3)_3SiOH$$

$$2\,(CH_3)_3SiOH \xrightarrow{\text{Kondensation}} (CH_3)_3Si{-}O{-}Si(CH_3)_3$$

Methyl-Siloxan

analog

II

$$(CH_3)_2SiCl_2 \xrightarrow[\text{Kondensation}]{\text{Hydrolyse} +} (CH_3)_2\left[\begin{matrix}Si{-}O\end{matrix}\right]\left[\begin{matrix}(CH_2)_2\\ Si{-}O\end{matrix}\right]_x\left[\begin{matrix}(CH_3)_2\\ Si{-}O\end{matrix}\right]$$

Methyl-poly-siloxane, mit ringförmig gebauten Molekülen

analog

I + II. $\left.\begin{matrix}(CH_3)_3SiCl\\(CH_3)_2SiCl_2\end{matrix}\right\} \xrightarrow[+\text{ Kondensation}]{\text{Co-Hydrolyse}} (CH_3)_3Si{-}O\left[\begin{matrix}(CH_3)_2\\-Si-O-\end{matrix}\right]_xSi(CH_3)_3$

Methyl-poly-siloxane, mit kettenförmig gebauten Molekülen.

Methyl-poly-siloxane (Silicone) erregten sehr bald wegen ihrer Verwendbarkeit als Öle, Harze, plastische Massen, filmbildendes Material Aufsehen. Neben dem Ortho-Kieselsäure-äthylester und neben den Poly-Kieselsäure-äthylestern (*12*)

$$Si(OC_2H_5)_4, \qquad (C_2H_5O)_3SiOSi(OC_2H_5)_3 \qquad \text{usf.}$$

gehören sie zu den silico-organischen Verbindungen, die bis jetzt die größte praktische Bedeutung erlangt haben.

Das Interesse, das der Stoffgruppe Silicone entgegengebracht wird, darf deswegen nicht vorzeitig oder ausschließlich durch die vielerorts stark betonten Möglichkeiten der Verwendbarkeit bestimmt werden. Der erwähnten Darstellung ROCHOWs liegt (zum Teil klar ausgesprochen, zum Teil angedeutet) der Wunsch zugrunde, daß die Erfahrungen über Entstehung und Eigenschaften der Silicone fortlaufend *grundsätzliche* chemische Fragen aufwerfen und daß durch eine Erweiterung der Silicon-Literatur eine konjunkturunabhängige Silicon-Forschung möglich werde.

Seit 1946 hat sich die Silicon-Literatur tatsächlich schon sehr ausgedehnt (*18*). In den folgenden Abschnitten wird versucht, einige der hervortretendsten Ergebnisse der Silicon-Forschung zu beschreiben und auf Fragestellungen und Beobachtungen auf angrenzenden Gebieten hinzuweisen. Auf Vollständigkeit in der Aufzählung von Einzelbefunden wird verzichtet.

2. Silicium und Kohlenstoff.

In der Chemie des Siliciums gibt es zwei grundlegende Erfahrungen, die sehr viele Einzelheiten einschließen.

Die erste Erfahrung bezieht sich auf die starke Tendenz des Siliciums, sich mit Sauerstoff zu verbinden. Sie findet ihren allgemeinsten Ausdruck in der Tatsache, daß überall in der Natur Verkieselung eintritt, wo Silicium-Verbindungen mit Sauerstoff abreagieren können. Die Bildungswärme für 1 Mol des festen Endproduktes der Verkieselung, SiO_2, ist ungefähr doppelt so groß wie die Bildungswärme für 1 Mol des gasförmigen Endproduktes der Verwesung, CO_2 (208 und 94 Kcal) (*65*).

Die zweite Erfahrung bezieht sich auf die „Unähnlichkeit" von Silicium und Kohlenstoff. Es ist sehr oft zweckmäßiger, wirklich die Unterschiede als immer nur die Gleichheit in den Eigenschaften der beiden homologen Elemente zu betonen. H. MOISSAN (*71*) hat das schon 1904 mit den Worten ausgesprochen:

„Malgré les beaux travaux de WOEHLER, de FRIEDEL et de LADENBURG, il faut bien reconnaître que les composés dits organiques du

silicium ne se rapprochent nullement par leurs propiétés des composés du carbone de même formule."

A. STOCK hat 1917 nochmals ausdrücklich auf diese Äußerung Bezug genommen (*113*). Aus dem qualitativen Vergleich der Beständigkeit der einfachsten Verbindungen konnte er damals zusammenfassend angeben

für C-Verbindungen: ungefähr gleiche Beständigkeit von CH_4 und CO_2,

für Si-Verbindungen: Beständigkeit der Si-H-Bindung (in Silanen) gering; zunehmende Beständigkeit der Bindungen Si—CH_3, Si—N, Si—Cl, Si—O.

Unterschiede und Gleichheit in der Chemie des Siliciums und des Kohlenstoffes beruhen auf dem Bau der beiden Atomarten und den daraus sich ergebenden Bindungsmöglichkeiten.

Tabelle 1. *Beispiele zum Vergleich des* Si- *und* C-*Atoms.*

1. Atomradien (bei gleicher tetraedrischer Koordination im Diamantgitter):

$$r_{Si} = 1{,}17\ \text{Å}, \qquad r_C = 0{,}77\ \text{Å}.$$

2. Ordnungszahl (Kernladung) und Elektronenverteilung:

	1	2	3		4	
	s	*s*	*p*	*s*	*p*	*d*	*s*	*p*
6 C	2	**2**	**2**					
14 Si	2	2	6	**2**	**2**			
22 Ti	2	2	6	2	6	**2**	**2**	
32 Ge	2	2	6	2	6	10	**2**	**2**

Bei C, Si, Ge analog Sn, Pb) gehören die 4 Valenzelektronen (fettgedruckt) einer, bei Ti (analog bei Zr, Hf, Th) zwei verschiedenen Schalen an. Die so dargestellten energetischen Verhältnisse bewirken größere Ähnlichkeit des chemischen Verhaltens in der Reihe C, Si, Ge, Sn, Pb als in der Reihe C, Si—Ti, Zr, Hf, Th. Die Elemente der Hauptgruppe (C bis Pb) stehen 4 Stellen vor einem Edelgas; sie bilden flüchtige Hydride und flüchtige Methyl-Verbindungen (*62*).

3. Molare Bindungsenergien (Kcal) (*77*):

A		B	
1. C—C	59	6. C—S	54
2. Si—C	58	7. Si—S	61
3. Si—Si	42		
4. C—H	87	8. C—Cl	66
5. Si—H	75	9. Si—Cl	86
		10. C—O	70
		11. Si—O	89

Beispiele unter A: Si-Bindungen schwächer als entsprechende C-Bindungen.
Beispiele unter B: Si-Bindungen stärker als entsprechende C-Bindungen.

4. Bindungsarten:

a) Die Atomabstände in CCl_4, $C(CH_3)_4$, $Si(CH_3)_4$ entsprechen der Annahme einfacher unpolarer Bindung (*77*):

$$C{:}\overline{\underline{Cl}}| \qquad C{:}\overline{\underline{CH_3}}| \qquad Si{:}\overline{\underline{CH_3}}|.$$

Die Atomabstände in $SiCl_4$ machen Resonanz zwischen Doppelbindung, Einfachbindung und ionogener Bindung wahrscheinlich (*73*), (*77*):

$$\left\{Si^{(+)} \qquad Cl^{(-)} \qquad Si{:}\overline{\underline{Cl}}| \qquad Si{::}\overline{\underline{Cl}}\right\}.$$

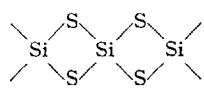
Makroskopische Unterschiede: CCl_4 gegen Wasser beständig, $SiCl_4$ leicht hydrolysierbar.

b) Die C—O-Bindung (in Äthern) hat zu etwa 22% polaren, die Si—O-Bindung (im Siliciumdioxyd) zu etwa 50% polaren Charakter (*77*), (*122*).

5. Koordinationszahlen (Stereochemie):

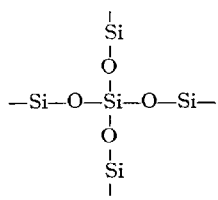
$CO_2(CS_2)$: Koordinationszahl für C = 2, einseitige Zuordnung der O-Atome (bzw. S-Atome) zum C-Atom im Molekül.

SiS_2: Koordinationszahl für Si = 4, Zuordnung je eines S-Atoms zu 2 Si-Atomen in einer SiS_2-Kette des Krystallverbandes (*125*)



(Übergang zwischen dem Molekül CO_2 und dem Koordinationsgitter SiO_2).

SiO_2: Koordinationszahl für Si = 4, Zuordnung je eines O-Atoms zu 2 Si-Atomen im SiO_2-Raumgitter des Krystallverbandes. Koordinationszahl für O = 2.



In einzelnen Silicium-Verbindungen muß für das Si-Atom mit der Koordinationszahl 6 gerechnet werden (H_2SiF_6), möglicherweise auch dann, wenn in O-haltigen Si-Verbindungen das O-Atom durch die OH-Gruppe ersetzt wird (*73*).

Der große Unterschied zwischen dem Aufbau des leicht flüchtigen CO_2 (Sublimationspunkt $-78°$ C) und dem Aufbau des schwer schmelzbaren SiO_2 (Schmelzpunkt $+1713°$ C) findet in den Bruttoformeln CO_2 und SiO_2 noch keinen Ausdruck. Unter Verzicht auf eine vollständige räumliche Darstellung können folgende Formulierungen zur ersten Andeutung der Strukturunterschiede benutzt werden (*73*):

CO_2 für das Molekül im Gaszustand.

$[(CO_2)_{\frac{8}{8}}]_\infty$ G für den krystallisierten Zustand. Molekülkrystall, kubisch-flächenzentriert. Jeder Baugruppe (CO_2) sind in nächster Nachbarschaft $\frac{12}{12}$ gleichartige Baugruppen zuzuordnen. Das 3-dimensionale Krystallgitter (G) ist unendlich (∞). Den Zusammenhalt der Baugruppe (CO_2) bewirken schwache (VAN DER WAALSsche) Kräfte.

$[SiO_{\frac{4}{2}}]_\infty$ G für den krystallisierten Zustand. Bausteine sind die Si- und die O-Atome, keine SiO_2-Moleküle. Jedem Si-Atom sind in nächster Nachbarschaft $\frac{4}{2}$ O-Atome zuzuordnen. Das 3-dimensionale Krystallgitter (G) ist unendlich (∞). Den Zusammenhalt der Si- und O-Atome bewirken starke (chemische) Bindungskräfte.

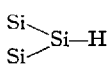
CO_2 ist der Typus einer molekülbildenden Verbindung, SiO_2 der Typus einer Krystallverbindung. Als Geometrie der Massenpunktverteilung lassen sich diese beiden Gruppen von Verbindungen, wie P. NIGGLI (*73*) und E. BRANDENBERGER (*10*) gezeigt haben, unter einheitlichen Gesichtspunkten behandeln. Aber für spezifisch chemische Betrachtungen, die sich auf Entstehung und Reaktionsweise der realen Stoffe beziehen, bedingen molekülbildende Verbindungen einerseits, Krystallverbindungen andererseits Unterschiede von großer Bedeutung bei der Handhabung der Stoffe. Die Chemie der Silicone gibt Anlaß, diese Unterschiede zu betonen und geradezu als Einteilungsprinzip zu verwenden.

3. Silicone als molekülbildende Verbindungen und als Krystallverbindungen.

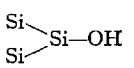
Es ist ein Zufall, daß die Bezeichnung „Silicon" für zwei ganz verschiedenartige Typen sauerstoffhaltiger Silicium-Verbindungen eingeführt worden ist, und zwar für Stoffe, die heute zweckmäßig als molekülbildende Verbindungen und als Krystallverbindungen auseinandergehalten werden. Dies geschah zu einer Zeit, in der die Chemie des Siliciums noch nicht unter einheitlichen Gesichtspunkten bearbeitet wurde und internationale Vereinbarungen über die Nomenklatur der Silicium-Verbindungen noch nicht bestanden.

1863 setzte F. WÖHLER (*121*) grobkrystallines Calciumsilicid mit gekühlter rauchender Salzsäure bei Lichtausschluß um. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung verdünnte er die Säure mit Wasser, filtrierte den festen Rückstand ab, preßte diesen mit Filtrierpapier trocken und trocknete ihn vollständig im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure. Das Reaktionsprodukt war orangegelb. Es bestand aus durchsichtigen Blättchen, die den Eindruck von Pseudomorphosen nach Calciumsilicid erweckten. Beim Erwärmen an der Luft entzündete es sich. Es verbrannte mit schwacher Verpuffung zu Kieselsäure; dabei schied sich auch („amorphes") Silicium ab. Beim Erhitzen unter Luftausschluß bildete sich Wasserstoff, Kieselsäure und („krystallisiertes") Silicium. F. WÖHLER nannte die feste orangegelbe Verbindung *Silicon*. Seine Beobachtungen bildeten später den Ausgangspunkt für die Untersuchungen von H. KAUTSKY (*49*), die zur Beschreibung des Siloxens und seiner auffallenden Substitutionsreaktionen führten. Im Siloxen (Bruttoformel $Si_6H_6O_3$) sind die Si-Atome mit unendlich oft

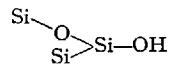
sich wiederholenden Si—Si-Bindungen in 6-Ring-Ebenen angeordnet. Über und unter diesen Ebenen liegen die O-Atome. Alle H-Atome sind unmittelbar an die Si-Atome gebunden und für substituierende Reagentien, die zwischen die 6-Ring-Ebenen eindringen, zugänglich. Substitution der H-Atome durch OH-Gruppen führt zu Oxy-siloxen. Bei Einwirkung kleiner Sauerstoffmengen werden vereinzelte Si—Si-Bindungen unter Erhaltung der 6-Ring-Ebenen in Si—O—Si-Bindungen überführt. Derart oxydierte Oxy-siloxen-Präparate entsprechen den gelben Silicon-Präparaten F. WÖHLERs. Der Übergang von Siloxen zu Silicon läßt sich als Ausschnitt aus den (unendlich zu denkenden) 6-Ring-Ebenen formulieren als



Siloxen (farblos).



Oxy-Siloxen (gelb → rot → schwarz. Zunehmende Zahl eingeführter OH-Gruppen verstärkt die Lichtabsorption).



Silicon (orangegelb. Si—O—Si-Bindungen verschieben die Lichtabsorption nach UV).

Silicone dieses Typs bestehen nur als laminarer Krystallverband. Sie sind nur durch die Reaktionsfolge Calciumsilicid→Siloxen→Silicon herstellbar. Ihre Struktur läßt grundsätzlich unendlich viele Variationen der analytischen Zusammensetzung zwischen Siloxen und Kieselsäure zu.

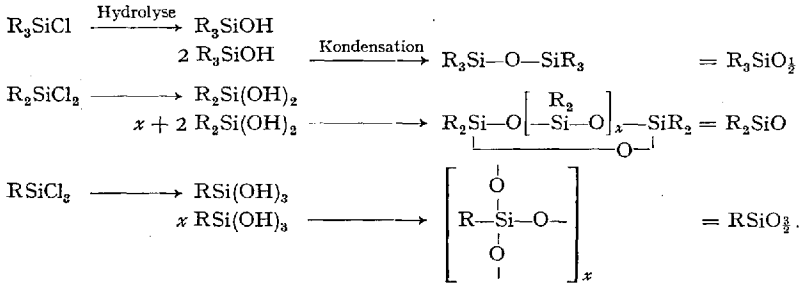
1901 setzten F. S. KIPPING und L. L. LLOYD (*55*) Siliciumtetrachlorid mit Phenylchlorid und Natrium um (WURTZsche Synthese). Sie erhielten, zunächst mit schlechter Ausbeute, Triphenyl-Silanol $(C_6H_5)_3SiOH$ und als Nebenprodukt die Verbindung $(C_6H_5)_2SiO$. Sie bezeichneten diese, ohne ausführlichere Diskussion, als Diphenyl-Silicon (englisch: silicone). Silicon R_2SiO in formaler Analogie zu Aceton $(CH_3)_2CO$ bürgerte sich bei dem Fortgang der Untersuchungen über silico-organische Verbindungen ein, obschon sehr bald deutlich wurde, daß dieser Vergleich nicht berechtigt ist. 1912 hielt es F. S. KIPPING (*52*) für zweckmäßig, Verbindungen vom Typus $(C_6H_5)_2SiO$ oder $(C_2H_5)_2SiO$ als „Oxyde" zu bezeichnen. Die Frage, ob die Bezeichnung Silicon zweckmäßig sei, ist im Laufe der Zeit unabhängig von den Vorschlägen zur systematischen Nomenklatur der Silicium-Verbindungen (*11*), (*13*), (*51*), (*52*), (*53*), (*110*), (*111*), (*112*) geworden. Es hat sich als notwendig erwiesen, eine einfache einprägsame Sammelbezeichnung für die große Gruppe silico-organischer Verbindungen zu benutzen, die nicht nur formal, sondern auch experimentell durch Hydrolyse- und Kondensationsreaktionen von den drei Organo-silicium-halogeniden

$$R_3SiCl \qquad R_2SiCl_2 \qquad RSiCl_3$$

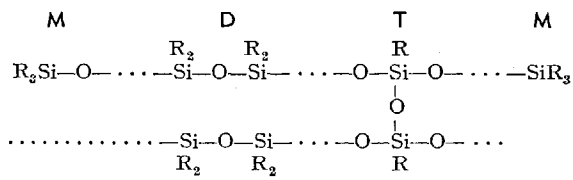
abgeleitet werden können. Die systematische Nomenklatur von Silicium-Verbindungen hat Trivialnamen nie ganz verdrängt, weil ihre Bezeichnungsweisen für größere Atomverbände zu kompliziert werden

(*98*). Im einzelnen wird die Benutzung der Sammelbezeichnung durch folgende Erfahrungen nachträglich gerechtfertigt:

1. Die Hydrolyse- und Kondensationsprodukte der drei Organo-silicium-halogenide enthalten alle Si—O—Si-Bindungen. Verbindungen vom Typus R_2SiO (die eigentlichen Silicone) nehmen keine Sonderstellung ein. Sie enthalten keine (Si=O)-Bindungen.



2. Bei den üblichen Reaktionen, die für die Herstellung eines der drei Organo-silicium-halogenide angewandt werden, entstehen die drei Verbindungen zwangsläufig (wenn auch in verschiedenen Mengenverhältnissen) nebeneinander. Wenn sie nicht sorgfältig voneinander getrennt werden, finden bei der Hydrolyse die sich anschließenden Kondensationsreaktionen nebeneinander statt, derart, daß die Kondensationsprodukte Baugruppen *gemeinsamer* Molekülverbände werden können. Das allgemeine Aufbauschema lautet dann



Die Baugruppen R_2SiO tragen zu linearer, die Baugruppen $RSiO_{\frac{3}{2}}$ zu verzweigter Entwicklung des durch die Si—O—Si-Ketten getragenen Molekülverbandes bei. Die Baugruppen $R_3SiO_{\frac{1}{2}}$ schließen die Si—O-Ketten ab. Es ist üblich geworden, diese Baugruppen auf Grund ihrer Beziehungen zu den Organo-silicium-halogeniden abgekürzt mit

S	(Tetramethyl	$Si(CH_3)_4$)
M	(Monochlorid	R_3SiCl)
D	(Dichlorid	R_2SiCl_2)
T	(Trichlorid	$RSiCl_3$)
Q	(Tetrachlorid	$SiCl_4$)

zu bezeichnen (*126*). Man sieht auch daraus, wie weit sich die Praxis der Stoffbezeichnung von den ursprünglichen Nomenklaturvorschriften entfernen mußte, damit eine schnelle Orientierung in so komplizierten Molekülverbänden möglich wurde.

Im Zusammenhang dieses Abschnittes über die Unterscheidung von molekülbildenden Siliconen und Krystallverbindungen ist es wesentlich, festzustellen, daß die Hydrolyse und die Kondensation der niedermolekularen Organo-silicium-halogenide zunächst auch nur zu niedermolekularen Verbindungen, d. h. *Siliconen mit abgrenzbaren Molekülverbänden* führt.

Beispiel:

$(CH_3)_3Si—O—Si(CH_3)_3$ Molekulargewicht 160, Siedepunkt 100°.

Es ist darüber hinaus selbstverständlich, auch in solchen Fällen von molekülbildenden Siliconen zu sprechen, in denen die Kondensationsreaktionen zu hochmolekularen, nichtflüchtigen oder nichtlöslichen Stoffen führen, deren Molekulargewicht nicht mehr unmittelbar bestimmt werden kann. Aussagen über ihre Struktur beruhen größtenteils auf den chemischen Erfahrungen über ihre Entstehung aus den niedermolekularen Verbindungen. Um den Einfluß der Baugruppen D und T auf die Eigenschaften hochmolekularer Silicone zu zeigen, unterwarfen E. G. ROCHOW und W. F. GILLIAM (*81*) Gemische von CH_3SiCl_3 und $(CH_3)_2SiCl_2$ mit bekanntem Mengenverhältnis der Hydrolyse und Kondensation. Sie kennzeichneten die Gemische durch das analytisch feststellbare Verhältnis CH_3/Si und beschrieben die bei etwa 20° entstehenden Produkte wie folgt:

CH_3/Si

1,0—1,3 Syrupöser Zustand, der allmählich in den Zustand eines durchsichtigen Harzes überging.

1,3—1,5 farblose, ölige Flüssigkeit.

1,5—1,9 leichtflüchtige Produkte.

Zunehmende Werte für CH_3/Si bedeuten hier zunehmenden Gehalt des Ausgangsproduktes an Dimethyl-silicium-dichlorid. Die verzweigenden Baugruppen T, die aus dem Gehalt an Monomethyl-siliciumtrichlorid stammten, bewirkten Verfestigung des Reaktionsproduktes. Nachbehandlung der Reaktionsprodukte bei höheren Temperaturen veränderte ihre Eigenschaften in Richtung zunehmender Verfestigung. Das zähe Harz wurde ein brüchiges Glas. Die Flüchtigkeit der Flüssigkeiten nahm ab, ihre Viscosität nahm zu.

Die molekülbildenden Silicone sind silico-organische Verbindungen. Sie können deshalb auch als silico-organische Silicone bezeichnet werden.

Unabhängig von der natürlichen Systematik der silico-organischen Silicone, welche sich auf die realen Beziehungen der niedermolekularen und der hochmolekularen Verbindungen zu den Methyl-silicium-chloriden in der Reihe

$SiCl_4$ $(CH_3)SiCl_3$ $(CH_3)_2SiCl_2$ $(CH_3)_3SiCl$ $(CH_3)_4Si$

bezieht, können Silicone im Zuge einer rein *formalen* Betrachtung aufgefaßt werden als

a) Derivate einer monomolekularen Orthokieselsäure (*63*) $Si(OH)_4$, in der die kondensationsfähigen (Si—OH)-Gruppen durch eine oder zwei oder drei der beständigen ($Si—CH_3$)-Gruppen ersetzt und damit die intermolekularen Kondensationsrichtungen stufenweise eingeschränkt sind. (Das Endglied dieser Reihe, $Si(CH_3)_4$, ist zu keiner Kondensation mehr befähigt.)

b) Derivate eines unendlich hochmolekularen Siliciumdioxyds, in dem die 3-dimensionale Verknüpfung von Si-Atomen über O-Atome durch die Einführung der ($Si—CH_3$)-Gruppen stufenweise unterbrochen ist.

E. G. ROCHOW (*83*) kennzeichnete dementsprechend den stofflichen Charakter eines festen Silicones (Harz) als das „Ergebnis einer teilweisen Preisgabe der Stabilität von Siliciumdioxyd durch Einführung organischer Gruppen zugunsten eines Gewinnes an Plastizität und Biegsamkeit". Es ist zu beachten, daß in dieser Bemerkung drei Gesichtspunkte enthalten sind, die gesondert diskutiert werden müssen und auf die deshalb im Rahmen dieser Darstellung der Chemie der Silicone in verschiedenen Abschnitten Bezug genommen wird:

1. Plastizität und Biegsamkeit sind makroskopische Stoffeigenschaften. Die Steigerung dieser Eigenschaften zuungunsten einer anderen makroskopischen Stoffeigenschaft (etwa zuungunsten der mechanischen Starrheit des festen Siliciumdioxyds) ist ein Problem der *Chemie der Werkstoffe.* (Vgl. dazu Abschnitt 10, S. 43.)

2. Die formale Ableitung hochmolekularer Methyl-poly-silicone vom festen Siliciumdioxyd gehört zu dem Versuch, auch die molekülbildenden Silicone als *Krystallverbindungen* aufzufassen. Die in diesem Abschnitt zunächst für zweckmäßig gehaltene Unterscheidung von molekülbildenden Verbindungen und von Krystallverbindungen schließt einen solchen Versuch nicht grundsätzlich aus. (Vgl. dazu Abschnitt 10, S. 44.)

3. Silicone (als sog. Derivate des Siliciumdioxyds) sind *sauerstoffhaltige Verbindungen des Siliciums.* Beschreibungen der Chemie der Silicone gehen deshalb mit Vorteil von einer allgemeinen Charakterisierung sauerstoffhaltiger Siliciumverbindungen aus. (Vgl. dazu den nächsten Abschnitt 4.)

4. Silicone als sauerstoffhaltige Verbindungen des Siliciums.

Die Unterscheidung der molekülbildenden Silicone (F. S. KIPPING) und der Krystallverbindungen Silicone (F. WÖHLER, H. KAUTSKY) beruht auf auffallenden Merkmalen der Strukturen. Sie bedeutet deshalb

eine schon spezielle Betrachtung. Allgemeiner ist die Frage nach der Stellung, die Silicone auf Grund ihres Silicium-Sauerstoffverhältnisses in der Reihe sauerstoffhaltiger Silicium-Verbindungen zwischen Monosilan SiH_4 und Siliciumdioxyd SiO_2 einnehmen.

Prosiloxan: H_2SiO.

A. STOCK und C. SOMIESKI (*116*) brachten Monosilan bei tiefen Temperaturen mit verdünntem und unverdünntem Sauerstoff zur Reaktion. Unter den Reaktionsprodukten wurden nicht nur Siliciumdioxyd und Wasser gefunden. Es wurde auch Prosiloxan H_2SiO gefaßt, die Verbindung, die ihren Namen der Auffassung verdankt, daß sie die „Vorstufe" aller Siloxane mit der Bindung Si—O—Si darstelle. Übersichtlicher als bei der partiellen Oxydation von Monosilan entsteht sie bei der Hydrolyse von Dichlor-silan oder Dibrom-silan nach

$$H_2SiBr_2 \xrightarrow{+\,2\,H_2O} H_2Si(OH)_2 \xrightarrow{-H_2O} H_2SiO$$

als zunächst flüchtige oder lösliche, d. h. niedermolekulare Verbindung, die rasch polymerisiert. Das feste Polymerisationsprodukt $[H_2SiO]_x$ ist im Vakuum bis etwa 300° beständig. An der Luft verbrennt es mit heller Flamme. A. STOCK, C. SOMIESKI und R. WINTGEN (*114*) reihten es unter die 1917 bekannten partiell oxydierten wasserstoff- und sauerstoffhaltigen Silicium-Verbindungen ein. Nach Einbezug des 1921 von H. KAUTSKY (*49*) beschriebenen Siloxens, sowie des 1947 von R. SCHWARZ und CHR. DANDERS (*98*) beschriebenen Deka-oxy,hexa-oxo,-deka-silans ergibt sich Tabelle 2. In dieser sind die Verbindungen ohne Rückicht auf ihre Struktur in der Reihenfolge des zunehmenden Verhältnisses Sauerstoff/Silicium aufgezählt.

Tabelle 2. *Wasserstoff- und sauerstoffhaltige* Si-*Verbindungen zwischen* SiH_4 *und* SiO_2 *(Auszug).*

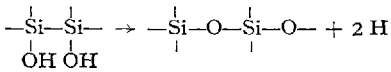
	H/Si	O/Si
Monosilan SiH_4	4	—
Di-siloxan $(H_3Si)_2O$	3	$^1/_2$
Siloxen $Si_6H_6O_3$	1	$^1/_2$
Prosiloxan H_2SiO	2	1
Di-oxo,di-siloxan H(O)SiOSi(O)H	1	$1^1/_2$
Deka-oxy,hexa-oxo,deka-silan $Si_{10}(OH)_{10}O_6$ (Derivat der Silico-sebazinsäure)	1	$1^6/_{10}$
Di-oxy,di-oxo,di-silan (HO)OSi · SiO(OH) (Silicooxalsäure)	1	2
1,3-oxy-oxo,2,2-oxy-trisilan (HO)OSi · Si(OH)$_2$ · SiO(OH) (Silico-mesoxalsäure)	$1^1/_3$	2
Siliciumdioxyd SiO_2	—	2

Hydrolyseprodukt von $Si_{10}Cl_{22}$: $Si_{10}(OH)_{10}O_6$.

In Äther-Lösung führt vorsichtig gelenkte Hydrolyse des Siliciumchlorides $Si_{10}Cl_{22}$, d. h. des vollständig chlorierten Deka-silans, zu einem farblosen festen Reaktionsprodukt, das sich bei Erhitzung im Vakuum unter Wasserstoffentwicklung zersetzt. Das feste Dehydrierungsprodukt verbrennt an der Luft. Durch chemische Analyse begründeten R. SCHWARZ und CHR. DANDERS (*98*) die Auffassung, daß in dem primären Produkt der Hydrolyse die Verbindung $Si_{10}(OH)_{10}O_6$ vorliegt, in der die Si—Si-Kette des Chlorosilans $Si_{10}Cl_{22}$ unverändert erhalten blieb. Die Dehydrierung

$$Si_{10}(OH)_{10}O_6 \rightarrow Si_{10}O_{16} + 10\,H$$

wurde als Folge einer Selbstoxydation gedeutet, bei der O-Atome aus OH-Gruppen in Si—Si-Bindungen eintreten. Auszugsweise ergibt dies Formulierungen wie



$Si_{10}O_{16}$ ist eine immer noch unvollständig oxydierte Silicium-Verbindung. Sie kann unter Luftausschluß disproportionieren

$$Si_{10}O_{16} \rightarrow 8\,SiO_2 + 2\,Si$$

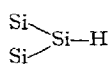
und an der Luft zu SiO_2 verbrennen.

Siloxen: $Si_6H_6O_3$.

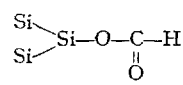
Im Abschnitt 3 ist bereits (an Hand des Strukturbildes) auf die stufenweise Oxydierbarkeit des Siloxens hingewiesen worden. Analytisch sind kontinuierliche Übergänge von Siloxen zu Kieselsäure möglich. Zur weiteren Kennzeichnung können die folgenden Einzelerscheinungen angeführt werden (*49*):

a) Hexa-oxy-siloxen $Si_6O_3(OH)_6$ (= Substitution aller H-Atome durch OH-Gruppen) explodiert mit Sauerstoff.

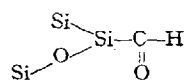
b) Sauerstoffhaltige Substituenten der (Si—H)-Gruppe werden (bei Belichtung) durch benachbarte Si—Si-Bindungen der 6-Ring-Ebenen reduziert: innere Oxydation.



Siloxen



Acyl-derivat (Ameisensäure)



Formiat-Siloxen

c) Siloxen ist im Dunkeln und bei absolutem Ausschluß von Sauerstoff inert gegen Bromoform. Im Dunkeln, aber bei geringem Sauerstoff-Partialdruck, wird Siloxen durch Bromoform stürmisch bromiert. Die bei der Oxydation einiger Si—Si-Bindungen in der 6-Ring-Ebene (→ —Si—O—Si—) gelieferte Energie beschleunigt die Substitutionsreaktion an den (Si—H)-Gruppen. Obwohl ein Vergleich der Elementarvorgänge noch nicht möglich ist, darf in diesem Zusammenhang an die

Reaktion von Trisilan Si_3H_8 mit Chloroform erinnert werden. Trisilan ist unter Ausschluß von Luft inert gegen Chloroform. Bei Zutritt von Luft tritt heftige Explosion ein (*117*), wobei auch Cl-Substitutionsprodukte des Trisilans entstehen. Monosilan SiH_4 zeigt diese Erscheinung nicht. Es ist naheliegend, anzunehmen, daß auch hier die Oxydation der Si—Si-Bindungen eine besondere Rolle spielt.

Alle diese Vorgänge an SiH_4, H_2SiO, $Si_{10}(OH)_{10}O_6$, $Si_6O_3H_6$ zeigen in einer sehr anschaulichen Weise, daß Verbindungen mit (Si—H)-Bindungen oder mit (Si—Si)-Bindungen gegen Sauerstoff unbeständig sind und unter speziellen Umständen *stufenweise* bis zum Endglied SiO_2 oder Kieselsäure aufoxydiert werden können. Demgegenüber fällt die Beständigkeit der einfachsten Silicium-Verbindungen mit (Si—C)-Bindungen oder mit (Si—O—Si)-Bindungen auf.

$Si(CH_3)_4$: Siedepunkt + 26° wird bei 20° durch konzentrierte Schwefelsäure nicht oxydiert.

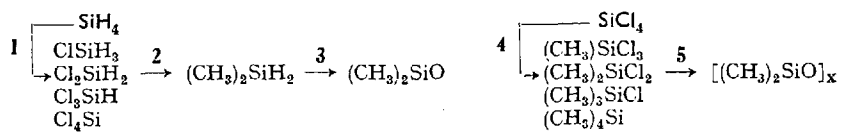
$(CH_3)_3Si—O—Si(CH_3)_3$: Siedepunkt + 100°. Bei 400° im Stickstoffstrom findet kein Angriff der (Si—CH_3)-Bindungen oder der (Si—O—Si)-Bindungen statt. In Luft destillierbar (*75*).

5. Unterteilung der Chemie der silico-organischen Silicone.

Die Arbeitsweise, welche zur Wiederbelebung der Silicon-Forschung im Rahmen der Chemie silico-organischer Verbindungen führte (vgl. Abschnitt 1, Vorbemerkung), wird deutlich, wenn man zwei Versuche aus verschiedenen Jahren über die Hydrolyse von Silan-Derivaten miteinander vergleicht.

Ein Netz von Reaktionen verknüpft die verschiedenen Gruppen einfacher Derivate des Monosilans, z. B. die Chlor-, die Methyl- und die Chlor + Methyl-Substitutionsprodukte. Tabelle 3 enthält einen Auszug aus der Liste dieser Verbindungen mit einigen Beispielen der Zwischenreaktionen.

Tabelle 3. *Einige Silan-Derivate und ihre Umsetzungsprodukte.*



1 $SiH_4 + 2\,HCl \xrightarrow{AlCl_3} Cl_2SiH_2 + 2\,H_2$

2 $Cl_2SiH_2 + Zn(CH_3)_2 \rightarrow (CH_3)_2SiH_2 + ZnCl_2$

3 $(CH_3)_2SiH_2 + 2\,H_2O \rightarrow (CH_3)_2Si(OH)_2 + 2\,H_2$

$(CH_3)_2Si(OH)_2 + 2\,NaOH \rightarrow (CH_3)_2Si(ONa)_2 + 2\,H_2O$

$(CH_3)_2Si(ONa)_2 + 2\,HCl \rightarrow (CH_3)_2Si(OH)_2 + 2\,NaCl$

$(CH_3)_2Si(OH)_2 \rightarrow (CH_3)_2SiO + H_2O$

4 $SiCl_4 + 2\,CH_3MgCl \rightarrow (CH_3)_2SiCl_2 + 2\,MgCl_2$

5 $(CH_3)_2SiCl_2 + 2\,H_2O \rightarrow (CH_3)_2Si(OH)_2 + 2\,HCl$

$(CH_3)_2Si(OH)_2 \rightarrow (CH_3)_2SiO + H_2O$

1919 setzten A. STOCK und C. SOMIESKI (*115*) in der nach STOCK benannten Glasapparatur Monosilan SiH_4 (Siedepunkt $-112°$, Schmelzpunkt $-185°$) mit gasförmigem Chlorwasserstoff bei Gegenwart von festem Aluminiumchlorid zu Dichlor-Silan (Siedepunkt $+8{,}3°$, Schmelzpunkt $-122°$) um: Reaktion 1 in Tabelle 3. Sie methylierten mit gasförmigem Zink-Dimethyl zu Dimethyl-Silan (Siedepunkt $-20°$, Schmelzpunkt $-150°$): Reaktion 2. Anschließend hydrolysierten sie mit 30%iger Natronlauge und schieden durch Neutralisation mit Salzsäure ein öliges Kondensationsprodukt aus, dem sie in Analogie zu damals bekannten Äthyl- bzw. Äthyl-Phenyl-Substitutionsprodukten des Silans die Formel $(CH_3)_2SiO$ gaben: Reaktion 3. Aus 5,57 cm³ reinem gasförmigem Dimethyl-Silan erhielten sie auf diese Weise eine Emulsion, die den ursprünglichen Meniscus der flüssigen Phase abflachte und sich als ölige Schicht auf der Flüssigkeit sammelte. Die Emulsion benetzte das Glasgefäß nicht mehr. Die Ölschicht löste sich in Benzol. Beim Abdampfen des Benzols hinterblieb ein farbloser Syrup.

Die leitende Idee STOCKs bei den apparativ vollkommenen Versuchen war der Wunsch, mit einfachsten Verbindungen leichter Atome Zusammenhänge zwischen Atombau und Molekülbau aufzuklären, sog. Atomstruktur-Chemie zu treiben. A. STOCK interessierte sich in diesem Zusammenhang unter anderm für das Mono-Methyl-Silan, H_3SiCH_3, also für die Silicium-Verbindung mit der geringsten Konzession an die organische Chemie, in der das Silicium-Atom und das Kohlenstoff-Atom je 3 H-Atome mitbringen und in der sich demnach die Chemie des Siliciums und des Kohlenstoffs gerade hätten die Waage halten müssen.

1946 hydrolysierten W. PATNODE und D. F. WILCOCK (*75*) etwa 4 kg Dimethyl-silicium-dichlorid (Siedepunkt $+70°$, Schmelzpunkt $-86°$) mit einem großen Überschuß von Wasser vollständig: Reaktion 5 in Tabelle 3. Sie führten das Chlorid unter starker Rührung bei 15—20° in 12 Liter Wasser ein und erhielten bei dieser exothermen Reaktion etwa 2 Liter eines farblosen, mit Wasser nicht mischbaren Öls, aus dem sie durch fraktionierte Destillation bei 1 at bzw. bei stark vermindertem Druck Methyl-poly-silicone vom Typus $[(CH_3)_2SiO]_x$ erhielten. Die Mengenverhältnisse waren für

$x =$	3	4	5	6	>6
% =	0,5	42	6,7	1,6	49,2

Dadurch, daß hier die einzelnen Verbindungen auf einem übersichtlichen Reaktionsweg und *in größeren Mengen* anfielen, konnten diese durch ihre Siedepunkte, durch ihre Molekulargewichte in Cyclohexan-Lösungen und teilweise auch durch chemische Analyse identifiziert werden. Die monomere Verbindung $(CH_3)_2SiO$ und die dimere Verbindung $[(CH_3)_2SiO]_2$

wurden dabei nicht gefunden. Der schwerflüchtige Rückstand enthielt hochmolekulare Diole vom Typus

$$HO—[(CH_3)_2SiO]_xSi(CH_3)_2—OH.$$

Aus Tabelle 3 ergibt sich die Systematik, die zweckmäßig einer Betrachtung der speziellen Chemie der Silicone im Rahmen der Chemie silico-organischer Verbindungen zugrunde gelegt wird.

1. Ausgangsprodukte. Da Silicone sauerstoffhaltige Silicium-Verbindungen sind, bildet formal (und für großtechnische Verfahren auch praktisch) Siliciumdioxyd neben den organischen Komponenten die stoffliche Grundlage. Die Wege von Siliciumdioxyd zu Silicium oder zu Siliciumtetrachlorid sind allgemein bekannt und vielseitig erprobt. Die spezielle Chemie der Silicone beginnt mit der Herstellung der organo-substituierten Siliciumhalogenide aus Silicium bzw. Siliciumtetrahalogenid. Diese Stufe der Silicon-Forschung enthält als wichtige Teilprobleme die nachträgliche Korrektur der Mengenverhältnisse der nebeneinander entstehenden, verschieden weit substituierten Siliciumhalogenide, sowie die vollständige Trennung der substituierten Siliciumhalogenide voneinander.

2. Hydrolyse und Kondensation. Die Möglichkeit, die Hydrolyse der organo-substituierten Siliciumhalogenide zu Silanolen und die Kondensation der Silanole zu Siloxanen bzw. Siliconen (Beispiel Reaktion 5 in Tabelle 3) gegeneinander abzusetzen, hängt von der Zahl und von der Art der an Silicium gebundenen organischen Gruppen ab. Um zu zeigen, daß die Isolierung von Silanolen verschieden leicht gelingt, sind in Tabelle 4 die einfachsten organo-substituierten Silanole mit Jahreszahlen ihrer Bearbeitung zusammengestellt.

Tabelle 4. *Beispiele nachgewiesener oder isolierter Silanole (und eines Siloxanols).*

Verbindung	Schmelzpunkt oder Siedepunkt	Bearbeitet in den Jahren
$(CH_3)_3Si(OH)$	Siedepunkt + 97° (100°)	1944 (*11*), 1946 (*103*)
$(CH_3)_2Si(OH)_2$		
$(C_2H_5)_3Si(OH)$	Siedepunkt + 153,5°	1871—1944 (*11*), 1946 (*103*)
$(C_2H_5)_2Si(OH)_2$	Schmelzpunkt + 98°, Zersetzung + 140°	1946 (*14*)
$(C_6H_5)_3Si(OH)$	Schmelzpunkt + 155°	1899—1939 (*11*)
$(C_6H_5)_2Si(OH)_2$	Schmelzpunkt 132—155°	1912—1945 (*11*)
$(C_2H_5)_3Si-O-Si(C_2H_5)_2OH$.	Siedepunkt 96—98° (< 1 mm Hg)	1947 (*19*)

Vermehrung und Vergrößerung der organischen Substituenten stabilisiert die (Si—OH)-Gruppe (*47*).

Im allgemeinen überschneiden sich Hydrolyse und Kondensation. Diese Stufe der Silicon-Forschung enthält als wichtige Teilprobleme die nachträgliche Korrektur des Polymerisationsgrades der Kondensationsprodukte, sowie die Trennung der verschiedenen niedermolekularen Kondensationsprodukte voneinander und die Aufklärung ihrer Struktur.

3. Aufbereitung der Kondensationsprodukte zu Werkstoffen. Werkstoffeigenschaften sind makroskopische Stoffeigenschaften. E. BRANDENBERGER hat 1947 in einer Darstellung der „Grundlagen der Werkstoffchemie" (*9*) gezeigt, daß eine systematische Behandlung der Werkstoffe im Rahmen einer chemischen Strukturlehre möglich und notwendig ist. Das gilt auch für die Silicone. Diese Stufe der Silicon-Forschung enthält als wichtige Teilprobleme die Strukturaufklärung hochmolekularer Silicone, sowie die Prüfung ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften an makroskopischen Stoffproben.

6. Herstellung organo-substituierter Siliciumhalogenide.

(Ausgangsprodukte für Silicone.)

Der Bedarf nach rationellen Methoden zur Herstellung organosubstituierter Siliciumhalogenide fördert immer neue Untersuchungen über dafür geeignete Reaktionen. Es ist leider noch nicht möglich, alle in Betracht gezogenen oder sogar praktisch angewandten Reaktionen mit gleicher Ausführlichkeit zu diskutieren. Es muß angenommen werden, daß manche der neueren Erfahrungen in der Fachliteratur bisher zurückhaltend behandelt worden sind.

Abgesehen von den klassischen Reaktionen zur Herstellung silicoorganischer Verbindungen [Synthesen nach FRIEDEL und CRAFTS (*26*), (*27*), nach WURTZ (*55*), (*93*), (*79*) usf.] beanspruchen heute unter anderem die folgenden Reaktionstypen Interesse:

1. Die GRIGNARDsche Synthese (vgl. Abschnitt 1, S. 2);

2. die Synthese von ROCHOW (vgl. Abschnitt 1, S. 2);

3. die Hochdrucksynthese nach russischen Patenten (*83*), (*101*), wobei ungesättigte Kohlenwasserstoffe oder Kohlenmonoxyd mit Hilfe von Katalysatoren ($AlCl_3$ und anderen Metallchloriden) an Siliciumtetrachlorid angelagert werden, nach dem Schema

$$-\overset{|}{\underset{|}{Si}}-Cl + \begin{Bmatrix} C_2H_2 \\ C_2H_4 \\ CO \end{Bmatrix} \rightarrow -\overset{|}{\underset{|}{Si}}-\begin{Bmatrix} C_2H_2 \\ C_2H_4 \\ CO \end{Bmatrix}-Cl$$

(nur eine (Si—Cl)-Bindung tritt in Reaktion);

4. die Anlagerung ungesättigter Kohlenwasserstoffe (geradkettiger Olefine) an Silicochloroform unter Normaldruck nach E. W. PIETRUSZA, C. H. SOMMER, F. C. WITHMORE (*78*) mit Hilfe von Diacetylperoxyd $(CH_3COO)_2$ als Katalysator oder bei UV-Belichtung, nach dem Schema

$$RHC = CH_2 + HSiCl_3 \rightarrow (RH_2C—CH_2)SiCl_3$$

(R gerade Kette, Methyl- bis n-Hexyl-, schlechtere Ausbeuten bei verzweigten Ketten);

5. die Anlagerung ungesättigter Kohlenwasserstoffe (Olefine) an Chlor-silane oder an Methyl-chlor-silane unter Druck, ohne Katalysatoren nach A. J. BARRY, L. DE PREE, J. W. GILKEY, D. E. HOOK (*7*), nach dem Schema

$$\begin{matrix} | & | \\ C{=}C & \\ | & | \end{matrix} + \begin{cases} HSiCl_3 \\ HSiRCl_2 \\ HSiR_2Cl \end{cases} \rightarrow \begin{matrix} | & | \\ HC{-}C & \\ | & | \end{matrix} \begin{cases} SiCl_3 \\ SiRCl_2 \\ SiR_2Cl \end{cases}$$

(R z. B. Methyl);

6. die Umsetzung von Siliciumtetrachlorid mit Kohlenwasserstoffen im Gasstrom bei Temperaturen, die unter der Zersetzungstemperatur der Kohlenwasserstoffe liegen, nach U.S.-Patenten (*17*), (*69*), (*83*).

Reaktionen zur Herstellung von Organo-silicium-fluoriden u. a. (*80*), (*106*) sind hierbei noch nicht aufgeführt (vgl. S. 38). Es ist notwendig, die Reaktionen 1 und 2 ausführlich zu beschreiben, und zweckmäßig, diese Reaktionen abschließend mit Reaktion 4 zu vergleichen.

Bemerkungen zur GRIGNARD*schen Synthese.*

Wenn die Teilreaktionen einer GRIGNARDschen Synthese außer acht gelassen werden, dann kann ihr Umsatz ebenso wie der Umsatz von Siliciumtetrachlorid mit Zink-Dimethyl als eine Reaktion angesehen werden, bei der organische Gruppen gegen Halogenatome ausgetauscht werden, und zwar zwischen einem ausgesprochenen *Metall* (Zn, Mg), das schwächere Bindungen mit Kohlenstoff eingeht, und *Silicium*, das stärkere Bindungen mit Kohlenstoff eingeht:

$$1.\ SiCl_4 + Zn(CH_3)_2 \rightarrow Cl_2Si(CH_3)_2 + ZnCl_2,$$
$$2.\ SiCl_4 + 2\ CH_3MgCl \rightarrow Cl_2Si(CH_3)_2 + 2\ MgCl_2.$$

Diese Formulierung ist erweiterungsfähig für den Austausch von organischen Gruppen gegen Wasserstoffatome (*32*), (*68*):

$$3.\ (C_2H_5)_3SiH + n\text{-}C_4H_9Li \rightarrow (C_2H_5)(n\text{-}C_4H_9)Si + LiH.$$

Die Gleichungen 1, 2 und 3 beanspruchen an dieser Stelle nur insofern Interesse, als sie zu einem Vergleich silico-organischer Verbindungen mit metall-organischen Verbindungen anregen. Tabelle 5 gibt dazu die einfachsten Methyl-Verbindungen in der ersten Hälfte der 2. und 3. Periode des Periodensystems, sowie die entsprechenden Hydride.

In beiden Perioden ist der Übergang von salzähnlichen zu molekülbildenden Verbindungen deutlich. $Si(CH_3)_4$ gehört nicht mehr zu den ausgesprochen metall-organischen Verbindungen, die wegen ihrer Reaktionsfähigkeit so vielfach bearbeitet worden sind.

GRIGNARDsche Synthesen können als 2-Stufen-Reaktion (b nach a) und als 1-Stufen-Reaktion (a + b) durchgeführt werden:

$$a)\quad RCl + Mg \rightarrow RMgCl,$$
$$b)\ SiCl_4 + 2\ RMgCl \rightarrow R_2SiCl_2 + 2\ MgCl_2$$
$$(R = CH_3{-},\ C_2H_5{-},\ C_6H_5{-}\ usf.)$$

Tabelle 5. *Methyl-Verbindungen (62) und Hydride.*

2	$Li(CH_3)$ fest	$Be(CH_3)_2$ fest, sublimiert bei 200°	$B(CH_3)_3$ Siedepunkt − 20,2°	$C(CH_3)_4$ Siedepunkt + 9,4°
3	$Na(CH_3)$ fest	$Mg(CH_3)_2$ fest	$Al(CH_3)_3$ (*123*) Schmelzpunkt + 15,2° Siedepunkt + 130°	$Si(CH_3)_4$ Siedepunkt + 26°
2	LiH	—	B_2H_6 (*123*) $B_2H_2(CH_3)_4$	CH_4
3	NaH	—	— (*123*) $Al_2H_2(CH_3)_4$	SiH_4

Ihre allgemeine Anwendbarkeit beruht darauf, daß sich ihre Ansätze für die Überführung von Siliciumtetrachlorid in alle Substitutionsprodukte $RSiCl_3$, R_2SiCl_2, R_3SiCl, R_4Si und ebenso für die Überführung von nieder-substituierten in höher-substituierte Siliciumhalogenide berechnen lassen. Beispiel: $RSiCl_3 \rightarrow R_2SiCl_2$. Als Teilproblem enthalten sie die Wahl der Lösungsmittel für die reagierenden Komponenten und (bei größeren Ansätzen) der Wiedergewinnung der Lösungsmittel, sowie des Magnesiumhalogenids. Lösungsmittelfreie Ansätze versagen (*31*). Bezeichnend für die Reaktion ist, daß sie bei jedem für ein gewünschtes Reaktionsprodukt berechneten Ansatz als Nebenprodukt auch alle anderen Substitutionsprodukte zwischen $SiCl_4$ und $Si(CH_3)_4$ liefert.

Tabelle 6. GRIGNARD*sche Synthesen.*

1 Gewünschte Verbindung	2 Mol-Verhältnis im Ansatz $SiCl_4$: RMgCl	3 % Si des als $SiCl_4$ eingesetzten Si in Form der isolierten Verbindung (rund)	4 Mol-Verhältnis der Reaktionsprodukte (rund) $R_4Si:R_3SiCl:R_2SiCl_2:RSiCl_3$	5 Temperatur zu Beginn der Reaktion, Lösungsmittel
$(CH_3)_2SiCl_2$ (*31*)	1:2,64			Dibutyl-äther 40°
	1:2,55	24		Diäthyl-äther
$(CH_3)SiCl_3$ (*31*)	1:1,22			Dibutyl-äther 20°
	1:1,25	19	0:1,15:0,9:1	Diäthyl-äther
$(C_2H_5)_2SiCl_2$ (*57*)	1:2,25	34	0:0,26:1:0,5	Diäthyl-äther − 50°
$(C_2H_5)_3SiCl$ (*57*)	1:3,6	27	0,24:1:0,89:0,19	Diäthyl-äther − 15°

Zu Kolonne 1 und 2: Die Ansätze werden meist mit einem Überschuß der GRIGNARD-Verbindung berechnet.

Zu Kolonne 4: Neben der angestrebten Verbindung entstehen nieder- und höhersubstituierte Siliciumhalogenide.

Zu Kolonne 5: K. A. ANDRIANOV (*3*) hat als Lösungsmittel Benzol mit einem geringen Zusatz von Ortho-Kieselsäure-äthylester benutzt.

Trotzdem darf die Substitution der reaktionsfähigen (Si—Cl)-Gruppen nicht ausschließlich statistisch betrachtet werden (*30*). Die Bildung der symmetrischen Substitutionsprodukte R_2SiCl_2 scheint bevorzugt zu sein (*83*). Tabelle 6 enthält zur Veranschaulichung einige Angaben über praktisch angewandte Mol-Verhältnisse, über Ausbeuten der gewünschten Verbindungen, über Mol-Verhältnisse der nebeneinander entstehenden Reaktionsprodukte, über Lösungsmittel und Temperaturen. Es handelt sich dabei *nicht* um nachweisbar optimale Daten.

Der Gang einer GRIGNARDschen Synthese unterscheidet sich auch hier nicht grundsätzlich von den üblichen Ausführungsformen. Es ist lediglich zu beachten, daß nicht nur die Synthese selbst unter Ausschluß von Luft und Feuchtigkeit vor sich gehen muß, sondern daß auch die Aufarbeitung der (hydrolysierbaren) Reaktionsprodukte vollständigen Ausschluß von Feuchtigkeit verlangt. Besonderheiten treten dadurch auf, daß ein Teil der Reaktionsprodukte von den während der Synthese sich ausscheidenden Magnesiumsalzen festgehalten wird. Es ist deshalb vorteilhaft, wenn sich die Magnesiumsalze in leicht filtrierbarer Form abscheiden. Dann kann die Lösung mit den gewünschten Reaktionsprodukten aus dem Reaktionsgefäß abgezogen, das Lösungsmittel in das Reaktionsgefäß zurückdestilliert und wieder zum Auswaschen der Magnesiumsalze verwendet werden (*1*). Das Lösungsmittel und die Reaktionsprodukte können auch unmittelbar aus dem Reaktionsgefäß und damit von den festen Magnesiumsalzen abdestilliert werden. Das im Unterschuß angewendete Siliciumtetrachlorid wird bei der Reaktion vollständig verbraucht; aus der Lösung der Reaktionsprodukte scheidet sich bei Zusatz von Wasser keine Kieselsäure aus; mit Wasser liefern die Reaktionsprodukte ätherlösliche Verbindungen (Silicone). Auch die mit Äther reichlich ausgelaugten Magnesiumsalze liefern beim Umsatz mit Wasser immer noch höhermolekulare Silicone, die allerdings noch nicht Produkte vollständiger Kondensation darstellen. Bei der Destillation dieser Produkte im Vakuum geben diese fortlaufend Wasser ab, das sich nachträglich (beim Zurücktropfen) nicht mehr mit ihnen mischt.

Bemerkungen zu der Synthese von ROCHOW.

Die stoffliche Belastung, welche die Lösungsmittel, das Magnesium und das Brom (Herstellung von RMgBr) für die GRIGNARDsche Synthese bedeuten, fallen fort bei dem Umsatz

1. $2\,CH_3Cl\,(gasf.) + Si\,(fest) \rightarrow (CH_3)_2SiCl_2$, exotherm. (*82*), (*83*).

Er ist das Ergebnis vieler Voruntersuchungen gewesen (*82*), (*83*). Seine Eigenart kommt in der Gleichung 1 nicht genügend zur Geltung, auch dann nicht, wenn zusätzlich angegeben wird, daß er vorteilhaft mit einem „Katalysator" (Kupfer) ausgeführt wird. E. G. ROCHOW (*83*)

hat den Umsatz, der nicht auf Methylchlorid beschränkt ist, 1945 folgendermaßen gekennzeichnet:

"It should be emphasized that the reaction is complex, and that the only simple equations which may be written represent summations of the chemical changes which have taken place rather than representations of the course of reaction."

Teilreaktionen des Gesamtumsatzes. Neben Reaktion 1 sind möglich (*82*):

$$\begin{aligned}
&2.\ 3\,RX + Si \rightarrow RSiX_3 + 2\,R^{x},\\
&3.\ 3\,RX + Si \rightarrow R_3SiX + 2\,X^{x},\\
&\quad 4\ X + Si \rightarrow SiX_4,\\
&4.\ 4\,RX + 2\,Si \rightarrow R_4Si + SiX_4,\\
&5.\ 2\,RX + Si \rightarrow RSiHX_2 + (H) + (C).
\end{aligned}$$

R = organische Gruppe, X = Halogen, x = mit Folgereaktionen.

Erfahrungen über den Gesamtumsatz. Ein vollständiges Bild von der Eigenart des Umsatzes kann nur durch ein sorgfältiges Studium einzelner Versuchsdaten gewonnen werden. Es wird deshalb auch an dieser Stelle ausdrücklich auf die Originalmitteilungen verwiesen. Ein gutes Beispiel liefert ein Versuch, der mit reinst gepulvertem Silicium [98% Si, durch ein 350-Maschensieb (*34*) gesiebt] unter Zusatz von Kupfer(I)-chlorid ausgeführt wurde. Die Menge dieses Zusatzes ist nicht genau angegeben; aus anderen Mitteilungen darf geschlossen werden, daß der Kupfergehalt dieses Gemisches etwa 10% betrug. In der *Vorbehandlung* wurde das Gemisch nochmals verrieben und auf 265° erhitzt. Dabei setzte eine schnelle Reaktion zwischen den beiden Bestandteilen unter Bildung von flüchtigem Siliciumtetrachlorid und unter Abscheidung von Kupfer auf dem unveränderten Silicium ein ($Si + 4\,CuCl \rightarrow SiCl_4 + 4\,Cu$). Das auf diese Weise mit Kupfer beladene Silicium reagierte bei 300° lebhaft mit Chlormethyl, zunächst hauptsächlich unter Bildung des Dimethyl-silicium-dichlorids (Gleichung 1), später unter Bildung von substituierten Siliciumchloriden mit geringerem Methylgehalt. Nach dem Umsatz von etwa 60% des eingesetzten Siliciums war das Mengenverhältnis der Reaktionsprodukte (*82*):

$(CH_3)SiHCl_2$	$[SiCl_4 + (CH_3)_3SiCl]$	$(CH_3)SiCl_3$	$(CH_3)_2SiCl_2$
11,8%	9,4%	36,8%	42,1%

Die bevorzugte Richtung im Gesamtumsatz (Gleichungen 1—5) ist aus nicht vollständig übersehbaren Gründen abhängig vom Verteilungsgrad des Siliciums, von der Stoffart des Katalysators, von dessen Verteilung in der Siliciumphase, von der Temperatur und vielleicht auch von der Verweilzeit des Chlormethyls an der Siliciumoberfläche. „Unter günstigen Bedingungen" kann die wertvollste Verbindung R_2SiCl_2 mit einer Ausbeute von 70% erhalten werden. Ob sich diese Angabe auf das eingesetzte Silicium oder auf die insgesamt gewonnenen Reaktions-

produkte bezieht, ist in der Originalmitteilung nicht gesagt. Das letztere ist wahrscheinlich.

Um die in der Literatur als optimal bezeichneten Umsätze zu erreichen, sind gründliche Erfahrungen über das reagierende Stoffsystem erforderlich. Bei der Vorbehandlung des Siliciums für die Herstellung von Dimethyl-silicium-dichlorid muß von vornherein darauf hingearbeitet werden, daß das Silicium bei möglichst tiefer Temperatur mit Chlormethyl reagiert und daß die Temperatur des Reaktionsbeginnes für den weiteren Umsatz möglichst lange aufrechterhalten werden kann. Die Temperaturen des Reaktionsbeginnes sind bei verschieden vorbehandelten Silicium-Präparaten verschieden. Sie liegen etwa zwischen 285 und 350°. Wird die Temperatur zur Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit erhöht, dann verschiebt sich die Zusammensetzung des Reaktionsproduktes in Richtung des Siliciumtetrachlorids oder zunächst eines weniger methylierten Siliciumchlorids. Oft klingt der Umsatz vorzeitig ab; parallel dazu wird Kohlenstoffabscheidung auf dem noch unverbrauchten Silicium beobachtet. Durch milde Oxydation im Sauerstoffstrom unterhalb der vorher eingestellten Reaktionstemperatur kann ein Teil dieses Kohlenstoffes entfernt und durch anschließende Reduktion des oxydierten Kupfers im Wasserstoffstrom die ursprüngliche Reaktionsfähigkeit des Siliciums mit Chlormethyl vorübergehend wieder hergestellt werden. Wie weit dabei auch die ursprüngliche Zusammensetzung des Reaktionsproduktes (Methylgehalt) wieder erreicht wird, steht noch nicht fest. Bei dieser Regeneration des mit Kupfer beladenen Siliciums findet stellenweise ein starkes „Treiben" der festen Masse statt, das vermutlich durch eine besondere Verteilungsform des Kupfers bedingt ist (*58*). Die zugänglichen Vorschriften zur Herstellung eines im gewünschten Sinn reaktionsfähigen Siliciums enthalten verschiedenartige Vorschläge. Beispiele:

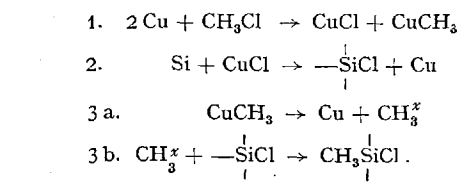
Gewichtsteile Si : Cu = 90 : 10 auf 1050° im Wasserstoffstrom erhitzt, Reaktion mit Methylchlorid bei 250—400°.

Gewichtsteile Si : Cu = 50 : 50, 20 Stunden auf 155° erhitzt. Das Gemisch wird bei dieser Temperatur bröcklig. Anschließend 21 Stunden im Luftstrom erhitzt bei 50—270°. Reaktion mit Methylchlorid um 420°. Verdünnung des Chlormethylstroms mit Stickstoff, Zumischung von wenig Chlor kann die Ausbeute erhöhen.

Die Reaktionsprodukte werden in Vorlagen kondensiert. Nichtkondensiertes Chlormethyl kann zur Reaktion mit Silicium zurückgeleitet werden. In den nichtkondensierten Abgasen treten leichtflüchtige, hydrolysierbare Silicium-Verbindungen auf.

Die Elementarvorgänge. D. T. Hurd und E. G. Rochow (*40*) haben mit einfachen, konsequent durchdachten Versuchsanordnungen ein

Reaktionsschema begründet, das die Wirkungsweise des Kupferzusatzes verständlicht macht:



Zu 1. Aus einem dünnen Kupferspiegel auf Glas wird bei 250° im Chlormethylstrom in 24 Stunden annähernd die Hälfte des Kupfers verflüchtigt, die Hälfte an Ort und Stelle in weißes Chlorid überführt. Kupfer wandert in Richtung des Chlormethylstroms (als instabiles Kupfermethyl, das sich fortlaufend zersetzt und neubildet).

Zu 2. Ein Gemisch von feinst gepulvertem Silicium und Kupfer(I)-chlorid reagiert bei 265° unter Bildung von Siliciumtetrachlorid und Kupfer. In Gleichung 2 wird *unvollständige* Chlorierung eines Silicium-Atoms angenommen, weil bekannt ist, daß milde Chlorierung von Silicium mit Chlor (150°, langsamer Chlorstrom) neben $SiCl_4$ zu Si_2Cl_6, Si_3Cl_8 usf., also zu „ungesättigten" Chloriden mit (Si—Si)-Bindungen führt (*94*).

Zu 3a. Chlormethyl, das bei 250° über Kupfer streicht, löst einen sich anschließenden Bleispiegel auf (Nachweis eines Radikals nach PANETH).

Zu 3b. Chlormethyl greift Silicium bei 250° kaum an. Wenn es zuvor über Kupfer streicht, erfolgt der Angriff schneller. Methylradikale, die aus Blei-tetramethyl stammen, greifen Silicium bei 250–400° nicht an. Es wird daher angenommen, daß die Bildung flüchtiger silicoorganischer Verbindungen mit (Si—C)-Bindungen und (Si—Cl)-Bindungen nur dann erfolgt, wenn Si-*Atome nahezu gleichzeitig durch Kupfermethyl einerseits und durch Kupfer(I)-chlorid andererseits methyliert und chloriert werden.* Daß diese Doppelreaktion an die feste Grenzfläche Si—Cu gebunden ist, wird durch vier zusätzliche Beobachtungen wahrscheinlich gemacht: In einem *Gasgemisch* von $SiCl_4$ und CH_3Cl, das bei 350° über Kupfer streicht, bilden sich keine Methyl-siliciumchloride. In *Ätherlösung* reagieren Kupferaethyl und $SiCl_4$ bei 20° nicht nach dem Vorbild einer GRIGNARDschen Synthese. Dagegen ist in dem System Si + Cu die *Grenzfläche* Si—Cu mikroskopisch nachweisbar der bevorzugte Reaktionsort für die Bildung flüchtiger Si- bzw. Cu-Verbindungen. Bei 375° wird die Bildung von Methyl-siliciumchloriden aus grobkörnigem Silicium begünstigt, wenn dem Methylchlorid 20–30% *Chlor* zugemischt werden (der geringe Chlorzusatz begünstigt nach 2 die unvollständige Chlorierung des Si-Atoms in der Oberfläche).

Die Elementarvorgänge 1, 2, 3a und 3b erklären die Tatsache, daß kleine Kupferzusätze zum Silicium große Wirkungen auf den Gesamtumsatz des Siliciums mit Chlormethyl ausüben können. Sie erklären noch nicht die Tatsache, daß der Gesamtumsatz sehr oft vorher abklingt bzw. empfindlich von der Versuchsführung abhängt. Diese letztere, *für die Reaktionsfolge ebenso charakteristische Tatsache* kann bedeuten, daß das Kupfer, welches fortlaufend verbraucht und zurückgebildet werden soll, sozusagen aus dem Takt kommt, d. h. durch den einen oder den anderen Elementarvorgang aufgehalten wird. Dafür kommen in erster Linie Vorgang 2 [Umsatz von festem Silicium mit festem Kupfer(I)-chlorid], außerdem Sammelkrystallisation von feinstverteiltem zu gröberteiligem Kupfer als zusätzlicher Vorgang 4 ($x\,Cu \rightarrow [Cu]_x$) in Betracht.

Begründung (*59*) durch mikroskopische Analyse der Einwirkung von Chlormethyl auf Cu, Si, Si + Cu:

a) Aus einem Kupferspiegel auf Glas wird bei **250°** Kupfer im Chlormethylstrom teilweise verflüchtigt, teilweise an Ort und Stelle als Kupfer(I)-chlorid zurückgelassen (Vorgang 1, wie bei HURD und ROCHOW). Bei 250° wird die ROCHOWsche Synthese im allgemeinen nicht ausgeführt.

b) In derselben Anordnung wie a), jedoch bei **350°** erfolgt die Verflüchtigung des Kupfers schneller. Daneben tritt der Dampfdruck des nach Vorgang 1 gebildeten Kupfer(I)-chlorids mehr in Erscheinung. Dementsprechend wandert jetzt auch das Kupfer(I)-chlorid deutlicher in Richtung des Chlormethylstroms. 350° ist die durchschnittliche Reaktionstemperatur für die ROCHOWsche Synthese.

c) Die blankpolierte Anschliff-Fläche eines aus der Schmelze erstarrten, dichten Krystallaggregates von Silicium wird bei **250°** durch Chlormethyl schwach angegriffen. Langsam entwickeln sich die *Korngrenzen* als die aktivsten Stellen. Wenn der Chlormethylstrom unmittelbar vorher über Kupfer streicht, überziehen sich die *Krystallflächen* des Siliciums allmählich mit einem sehr dünnen, zusammenhängenden Beschlag von weißem Kupfer(I)-chlorid. Dieses reagiert an den Korngrenzen teilweise unter Kupferabscheidung. Bei **350°** treten die wesentlichen Erscheinungen deutlicher und schneller auf. Der Beschlag von Kupfer(I)-chlorid auf dem Silicium reagiert an den Korngrenzen des Siliciums ab. Dort sammelt sich das ausgeschiedene Kupfer zu grobkörnigen Aggregationen, welche den Verlauf der Korngrenzen hervorheben, wie dies etwa bei einem metallographischen Ätzverfahren geschieht. Um die mit Kupfer belegten Korngrenzen bilden sich im weißen Beschlag von Kupfer(I)-chlorid Höfe aus, in denen das Kupfer(I)-chlorid verschwindet, aber kein Kupfer liegenbleibt.

Zusammenfassung. Die Aufklärung der Reaktionsfolge ist noch nicht abgeschlossen. Es handelt sich bei der Reaktion von Chlormethyl

mit dem System Si—Cu um eine Oberflächenreaktion, bei der die Grenzflächen zwischen Silicium und Kupfer Stellen bevorzugter Reaktionsfähigkeit sind, bei der jedoch mit fortschreitendem Verbrauch des Siliciums die Nachbildung neuer Grenzflächen Silicium—Kupfer Störungen unterliegen kann. Deswegen greift der Umsatz von Chlormethyl mit Silicium nicht immer durch ein gegebenes Korn des Siliciums durch. Dem bisherigen Schema der Teilvorgänge ist zu entnehmen, daß diese Störungen bei Anwendung von feinstteiligem Silicium am geringsten sind. Der Einfluß der Korngröße des Siliciums auf den Gesamtablauf der Reaktion ist sehr deutlich. Tatsächlich führt die Anwendung von sehr feinteiligem Silicium zu den besten Erfolgen.

Sowohl die Synthese nach GRIGNARD, als auch die Synthese von ROCHOW führen zu Gemischen von Organo-silicium-halogeniden. Es bedeutet deshalb für andere Reaktionen einen grundsätzlichen Vorzug, wenn ihre Reaktionsprodukte zwangsläufig einheitlich sind. E. W. PIETRUSZA, L. H. SOMMER und F. C. WITHMORE weisen auf diesen Vorzug der Reaktion 4 (S. 16) hin (*78*). Die Variationsmöglichkeiten liegen bei dieser Reaktion in den Substitutionsmöglichkeiten der ungesättigten Komponente

$$RHC=CH_2, \quad RHC=CHR, \quad R_2C=CH_2, \quad R_2C=CHR, \quad R_2C=CR_2,$$

nicht in der Zahl der substituierbaren Cl-Atome am Si-Atom. Sie kommen in erster Linie für die Synthese silico-organischer Verbindungen mit speziellen organischen Gruppen, weniger für die Synthese der Ausgangsprodukte für die einfachsten Silicone in Betracht.

Für *Korrekturen* des Methylgehaltes in den Stoffgemischen, die bei den Hauptreaktionen zur Herstellung der Methyl-silicium-chloride anfallen, steht unter anderem der Reaktionstypus

$$\left.\begin{matrix} SiCl_4 \\ (CH_3)SiCl_3 \\ (CH_3)_2SiCl_2 \\ (CH_3)_3SiCl \end{matrix}\right\} \xrightarrow{+\,CH_3Cl} \left\{\begin{matrix} (CH_3)SiCl_3 \\ (CH_3)_2SiCl_2 \\ (CH_3)_3SiCl \\ (CH_3)_4Si \end{matrix}\right.$$

zur Verfügung (*41*). Solche Umsetzungen werden in der Gasphase um 350° ausgeführt, wobei feinteilige Metalle (Al, Zn) das Halogen aufnehmen und in äquivalenter Menge die entsprechenden Salze bilden. Sie verlaufen nicht auf allen Stufen gleich leicht und liefern wiederum Stoffgemische. Bei höheren Temperaturen (> 400°) muß mit einer Automethylierung nach

$$2\,(CH_3)_2SiCl_2 \rightarrow (CH_3)_3SiCl + (CH_3)SiCl_3$$

gerechnet werden.

In allen Fällen bleibt schließlich für die Herstellung reiner Organosilicium-halogenide die Aufgabe der *Fraktionierung ihrer Gemische*

durch Destillation oder Krystallisation (*1*). Sie stellt, besonders bei der Destillation der Methyl-silicium-halogenide, hohe Anforderungen an die Trennwirkung der Destillationskolonnen. Abb. 1 gibt den Gang der Siedepunkte bei fortschreitender Substitution des Siliciumtetrachlorids wieder (*11*).

Die Siedepunkte für Q = $SiCl_4$ = 57,6°, T = $(CH_3)SiCl_3$ = 66,1°, D = $(CH_3)_2SiCl_2$ = 70,2°, M = $(CH_3)_3SiCl$ = 57,7° verteilen sich zwar über einen Temperaturbereich von rund 13°. Es kommt aber im Hinblick auf die folgenschwere Co-Hydrolyse (vgl. Abschnitt 3, S. 6) häufig gerade darauf an, die Fraktionen T und D mit der Siedepunktsdifferenz rund 4°, oder sogar die Fraktionen Q und M mit der Siedepunktsdifferenz rund 0,1° möglichst vollständig zu trennen. Letzteres ist besonders schwer, weil Q und M ein azeotropes Gemisch bilden (*89*), (*91a*). Die Wirkung einer Fraktionierung kann durch chemische Analyse der Destillate und durch Dichtemessungen kontrolliert werden. Für letztere sind Standardwerte aufgestellt worden (*6*). Über experimentelle und (aus Inkrementen) berechnete Siedepunkte unterrichten entsprechende Tabellen (*66*). Auszüge enthält Tabelle 6a.

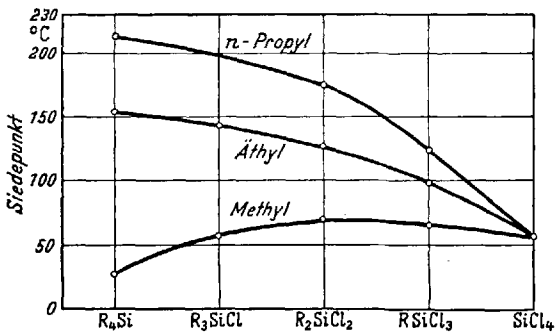


Abb. 1. Reproduktion aus Chemical Reviews *41*, 118 (1947).

Tabelle 6a. *Dichte und Siedepunkt der Methyl-silicium-chloride.*

	Siedepunkt °C	Dichte (g/ml) bei 25° C	Temperaturkoeffizient der Dichte: g/ml °C
$(CH_3)_2SiCl_2$	70,2	$1{,}066_3$	0,0018
$(CH_3)SiCl_3$	57,7	$1{,}269_1$	$0{,}0017_3$

Da die Feinfraktionierung des Rohproduktes aus der Reaktion von Methylchlorid mit Silicum (Synthese von ROCHOW) nicht nur für die Weiterverarbeitung der Methyl-silicium-chloride notwendig, sondern auch für die *Aufklärung der Teilreaktionen der Synthese* wertvoll ist, haben R. O. SAUER, W. J. SCHEIBER und E. M. HADSELL (*91b*) größere Mengen des Rohprodukts der Feinfraktionierung unterworfen und die Fraktion M, die im wesentlichen $(CH_3)_3SiCl$ enthalten soll, besonders eingehend auf ihre Siedepunktseigentümlichkeiten hin untersucht. Dabei sind neben den Siliciumchloriden Q, T, D, M

wasserstoffhaltige Silicium-Verbindungen wie

$CH_3Si(H)Cl_2$	Siedepunkt 41,0°
$(H)SiCl_3$	Siedepunkt 31,8°

und Kohlenwasserstoffe C_6 wie

2-Methyl-pentan	$CH_3-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{\vert}{CH}}-CH_2-CH_2-CH_3$	Siedepunkt 60,3°
3-Methyl-pentan	$CH_3-CH_2-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{\vert}{CH}}-CH_2-CH_3$	Siedepunkt 63,2°

außerdem höhere Kohlenwasserstoffe (C_7), vermutlich 2-Methylhexan (Siedepunkt 90,1°) und 3-Methyl-hexan (Siedepunkt 91,9°) und teilweise chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Äthylidenchlorid (Siedepunkt 57,4°) gefunden worden. Alle diese wasserstoffhaltigen Verbindungen sind Hinweise darauf, daß während der Synthese Methylgruppen abgespalten bzw. zersetzt wurden, und zwar als Folge örtlicher Überhitzung des Stoffsystems, die bei dem exothermen Charakter der Synthese leicht vorkommen kann. Die Konzentration der Kohlenwasserstoffe C_6 und C_7 in dem Rohprodukt der Methyl-silicium-chloride war allerdings sehr klein. Ihre Identifizierung gelang erst, nachdem die hydrolysierbaren Methyl-silicium-chloride in schwerer flüchtige Methyl-poly-silicone (vgl. Abschnitt 7) überführt worden waren. Abb. 2 enthält eine etwas vereinfachte Wiedergabe einer Siedepunktskurve aus der Originalmitteilung. Die Kohlenwasserstoffe C_6 waren in den Fraktionen des Temperaturbereiches I, die Kohlenwasserstoffe C_7 in den Fraktionen des Temperaturbereiches II enthalten. Im Temperaturbereich I treten azeotrope Gemische von $(CH_3)_3SiCl$ und $SiCl_4$ auf. Systematische Versuche führten zu der Auffindung der binären azeotropen Gemische in Tabelle 6b.

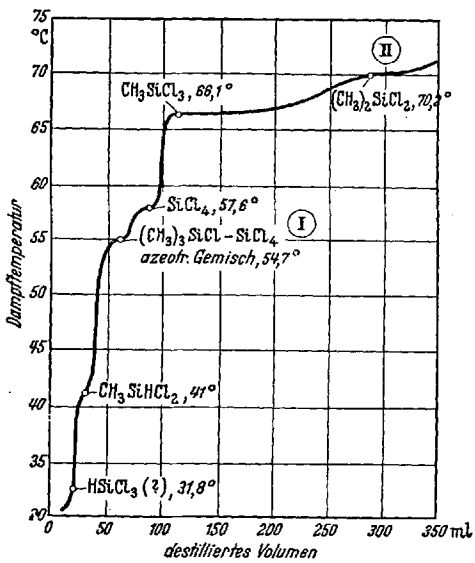


Abb. 2. Siedepunktskurve eines Rohprodukts der Synthese von ROCHOW (nach SAUER, SCHEIBER, HADSELL).

Wenn es nicht nötig ist, die Methyl-silicium-chloride selbst zu trennen, können diese durch Umsetzung mit Alkoholen in Alkoxyderivate [z. B.

Tabelle 6b. *Binäre azeotrope Gemische (A mit B).* (Nach SAUER und HADSELL.)

B	Siedepunkte für B in °C	Siedepunkte für A + B (azeotrop)	Zusammensetzung % A
	A = $(CH_3)_3SiCl$		
$SiCl_4$	57,6	54,7	35,2
2-Methyl-pentan	60,3	56,4	etwa 70,0
3-Methyl-pentan	63,2	57,3	etwa 75,0
Acetonitril	82,0	56,0	92,6
Acrylonitril	79,0	57,0	93,0
Äthylidenchlorid	57,4	etwa 56,0	?
	A = $SiCl_4$		
$(CH_3)_3SiCl$	57,7	54,7	64,8
Äthylidenchlorid	57,4	53,0	63,5
Acetonitril	82,0	49,0	90,6
Acrylonitril	79,0	51,2	89,0
Propionitril	97,0	55,6	92,0
Nitromethan	101,0	53,8	94,0
Chloroform	61,3	56,0	etwa 70,0

Auch ternäre azeotrope Gemische kommen vor.

$(CH_3)_3Si(OC_4H_9)$] mit höheren Siedepunkten und größeren Siedepunktsdifferenzen überführt werden.

Ebenso wie die fraktionierte Destillation des Rohproduktes werden thermodynamische und kinetische Untersuchungen über *Umlagerungsreaktionen* der Verbindungen S, M, D, T, Q zur Aufklärung der Teilreaktionen bei der Synthese von ROCHOW beitragen. P. D. ZEMANY und F. P. PRICE (*126*) haben unter anderem das Gleichgewicht

$$2\,D \underset{b)}{\overset{a)}{\leftrightarrow}} M + T,$$

in homogener Gasphase bei Gegenwart von verdampftem Aluminiumchlorid als Katalysator bearbeitet. Gemessen wurde die Gleichgewichtslage und die Geschwindigkeit der entgegengesetzt verlaufenden Reaktionen a) und b) bei 350 bzw. 420°. Die Konzentrationen der Komponenten M, D, T wurden massenspektroskopisch bestimmt. Diskutiert wurden die Meßergebnisse unter Benutzung des folgenden Reaktionsschemas:

1. Anlagerung des Aluminiumchlorids an D als schnell verlaufende Reaktion

$$(CH_3)_2SiCl_2 + AlCl_3 \rightarrow (CH_3)_2SiCl_2 \cdot AlCl_3\,.$$

2. Austausch von CH_3- und Cl-Gruppen als geschwindigkeitsbestimmende Teilreaktion, wobei zusätzlich angenommen werden kann, daß die Anlagerung des Aluminiumchlorids unter Komplexbildung wie etwa $[AlCl_4]$ die (Si—Cl)-Bindungen im Methyl-silicium-chlorid lockert.

$$(CH_3)_2SiCl_2 + (CH_3)_2SiCl_2 \cdot AlCl_3 \leftrightarrow (CH_3)_3SiCl + (CH_3)SiCl_3 \cdot AlCl_3\,.$$

3. Austausch von Aluminiumchlorid zwischen T und D als schnell verlaufende Reaktion

$$(CH_3)SiCl_3 \cdot AlCl_3 + (CH_3)_2SiCl_2 \leftrightarrow (CH_3)SiCl_3 + (CH_3)_2SiCl_2 \cdot AlCl_3 .$$

Im Gleichgewicht des Stoffsystems M + D + T verteilen sich die CH_3- und Cl-Gruppen nicht statistisch auf die Si-Atome.

7. Hydrolyse und Kondensation.

Vollständige Hydrolyse von Siliciumtetrachlorid führt zu Kieselsäure; unvollständige Hydrolyse, die mit berechneten Mol-Verhältnissen ($SiCl_4$: 1/2 H_2O) in Ätherlösung und bei tiefen Temperaturen verwirklicht werden kann, führt zu Siliciumoxychloriden (*19*), (*95*), (*128*), (*129*). Einführung organischer Gruppen in Siliciumtetrachlorid dämpft den Vorgang der Hydrolyse. Dieser verläuft aber auch bei den Organosilicium-chloriden R_3SiCl, R_2SiCl_2 $RSiCl_3$ immer noch rasch. Es genügt z. B., die Verbindungen in Eiswasser zu gießen. Dabei wird die (Si—Cl)-Bindung angegriffen. Die (Si—C)-Bindung wird unter besonderen Umständen nur dann in Mitleidenschaft gezogen, wenn die organische Gruppe ihrerseits weitgehend chloriert ist (*106*). In welchem Umfang sich an die Hydrolyse die Kondensation der primär gebildeten Silanole anschließt, hängt von Zahl und Art der Substituenten ab; dazu *Tabelle 4* im Abschnitt 5, S. 15.

Daß eine Änderung der Funktionen einer (Si—OH)-Gruppe mit einer Änderung der Belastung des Si-Atoms eintritt, ist auch aus der Chemie des *Siloxens* bekannt (*49*): Oxy-Siloxene adsorbieren saure Farbstoffe; d. h. die (Si—OH)-Gruppe hat basische Eigenschaften. Oxydierte Oxy-Siloxene („Silicone" von F. WÖHLER und H. KAUTSKY) adsorbieren basische Farbstoffe; d. h. die (Si—OH)-Gruppe hat saure Eigenschaften (vgl. Abschnitt 3, S. 6). Daß die Kondensationsgeschwindigkeit von (Si—OH)-Gruppen vom p_H des Mediums abhängen kann, lehren schon die Erfahrungen über die Herstellung von *monomolekularer Kieselsäure* (*63*). Kenntnisse über die Eigenschaften der (Si—OH)-Gruppe in *Silanolen* wurden natürlich zuerst an den langsam kondensierenden Silanolen gewonnen.

Beim Erwärmen einer vollständig wasserfreien Lösung von Trimethylsilanol in Xylol entwickelt Natrium die nach

$$(CH_3)_3SiOH + Na \rightarrow (CH_3)_3SiONa + {}^1/_2\, H_2$$

berechnete Menge Wasserstoff. Bei Zusatz von Trimethyl-silanol zu 12n-Natronlauge fällt Trimethyl-silanolat $(CH_3)_3SiONa$ aus; Ausbeute 87%. Die Säurefunktion der (Si—OH)-Gruppe ist stärker als bei der (C—OH)-Gruppe des Trimethyl-carbinols ausgeprägt (*103*).

Triäthyl-silicium-monochlorid läßt sich in Ätherlösung bei 0° mit 1 n-Natronlauge gegen Phenolphtalein titrieren, wenn durch starke Rührung für gute Dispergierung der nicht mischbaren Flüssigkeiten (Äther, Wasser) gesorgt wird. Aus der wäßrigen Phase kann anschließend Triäthyl-silanol isoliert werden; Ausbeute 95%. Umgekehrt kann Triäthyl-silanol mit konz. Salzsäure in wäßriger Lösung zu Triäthyl-silicium-monochlorid umgesetzt werden; Ausbeute 77% (*103*):

$$(C_2H_5)_3SiCl \underset{HCl}{\overset{NaOH(H_2O)}{\rightleftharpoons}} (C_2H_5)_3Si(OH).$$

Die einfachste Kondensationsreaktion ist die Bildung von Hexamethyl-disiloxan aus Trimethyl-silanol:

$$\underset{\text{Siedepunkt } +97°}{2\,(CH_3)_3SiOH} \rightarrow \underset{\text{Schmelzpunkt } +229°}{(CH_3)_3Si{-}O{-}Si(CH_3)_3}.$$

Sie erfolgt bei 20° an wasserbindenden Reagentien (Kaliumcarbonat, Aluminiumoxyd), oder bei längerem Erhitzen auf Siedetemperatur und führt zu einem azeotropen Gemisch des Ausgangs- und Endproduktes (*88*). Auch diese Reaktion kann umgekehrt werden (*103*). Dazu wird Hexamethyl-disiloxan mit konz. Schwefelsäure und Ammoniumfluorid umgesetzt und zunächst Trimethyl-silicium-monofluorid isoliert. Dieses wird in Ätherlösung mit Natronlauge gegen Phenolphtalein titriert [wie oben für $(C_2H_5)_3SiCl$ angegeben]. In der wäßrigen Phase erscheint Trimethyl-silanol; Ausbeute 70%, berechnet auf das eingesetzte Hexamethyl-disiloxan. Die (Si—O—Si)-Bindung wird also durch Flußsäure gelöst. Vgl. dazu den Angriff von Flußsäure auf Siliciumdioxyd.

Daß die Herstellung und Reinigung der Organo-silicium-halogenide, ihre Hydrolyse und die Kondensation der Hydrolyseprodukte *zusammenhängende* Probleme darstellen, machen die Versuche von T. ALFREY, F. J. HONN und H. MARK mit Diäthyl-silicium-dichlorid anschaulich (*1*). $(C_2H_5)_2SiCl_2$ wurde mit einem großen Überschuß von Wasser hydrolysiert:

$$(C_2H_5)_2SiCl_2 \rightarrow (C_2H_5)_2Si(OH)_2 \rightarrow [(C_2H_5)_2SiO]_x.$$

Das mittlere Molekulargewicht des Kondensationsproduktes fiel um so niedriger aus, je sorgfältiger das Ausgangsprodukt gereinigt worden war. Primäre Unterschiede der Molekulargewichte vergrößerten sich, wenn durch nachträgliches Erhitzen die Kondensation in den isolierten Reaktionsprodukten weitergetrieben wurde. Unterschiede der Molekulargewichte, die durch verschiedenen Reinheitsgrad des Ausgangsproduktes verursacht waren, erschienen wesentlich größer als Unterschiede der Molekulargewichte, die auf Unterschiede der Temperatur bei der Hydrolyse zurückgeführt werden mußten (vgl. Abb. 3).

I. $(C_2H_5)_2SiCl_2$, hergestellt mit der GRIGNARDschen Synthese, *einfach destilliert*, hydrolysiert bei etwa 5°: Molekulargewicht des Kondensationsproduktes 815.

Die Folgepunkte dieser Kurve zeigen den Anstieg des Molekulargewichtes, wenn das primäre Kondensationsprodukt 24, 48, 72 Stunden bei 200° gehalten und dann erst gelöst wurde.

II. $(C_2H_5)_2SiCl_2$ wie bei I, *dreifach destilliert*, hydrolysiert bei etwa 5°: Molekulargewicht des Kondensationsproduktes 410. Folgepunkte wie bei I.

III. $(C_2H_5)_2$ $SiCl_2$ wie bei I, *dreifach destilliert* und *fraktioniert krystallisiert*, hydrolysiert bei etwa 5°: Molekulargewicht des Kondensationsproduktes 250.

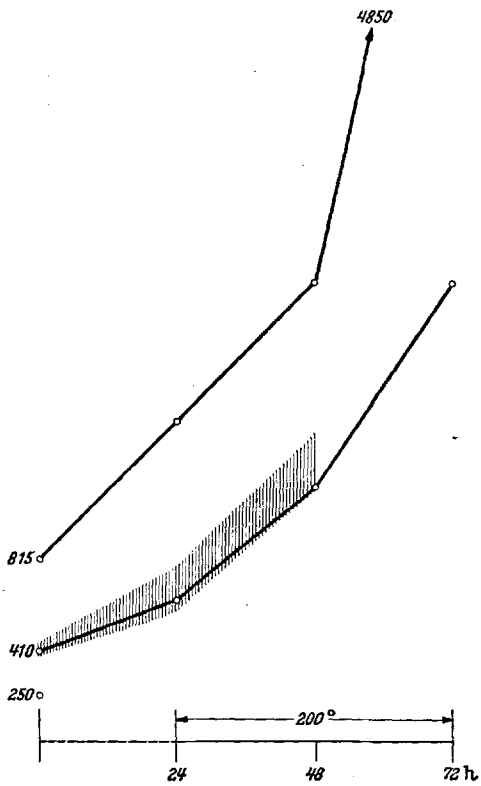


Abb. 3. Zur Hydrolyse von $(C_2H_5)_2SiCl_2$.

In den schraffierten Bereich um Kurve II fallen Molekulargewichte von Kondensationsprodukten, die sich von dreifach destilliertem $(C_2H_5)_2SiCl_2$ ableiteten, aber bei verschiedenen Temperaturen hydrolysiert worden waren. Aus der Tatsache, daß dieser Bereich sehr viel enger als der Bereich ist, der insgesamt von den Kurven I und II und von dem Punkt III eingeschlossen wird, geht hervor, daß bei der Herstellung von Siliconen auf den ersten Teilvorgang (Herstellung und Reinigung der Organosilicium-halogenide) besonders große Sorgfalt verwandt werden muß, wenn reproduzierbare Eigenschaften der Kondensationsprodukte erzielt werden sollen. Der große Einfluß des Reinheitsgrades der Organosilicium-halogenide auf die Eigenschaften der Hydrolyse- und Kondensationsprodukte wird durch das allgemeine Aufbauschema der Silicone verständlich (vgl. Abschnitt 3, S. 8).

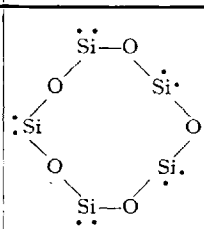
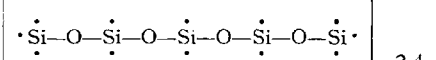
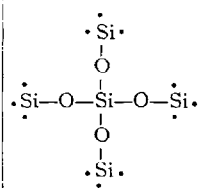
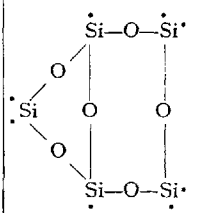
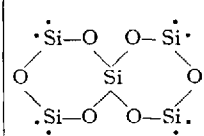
Im Abschnitt 5, S. 13, ist bereits gezeigt worden, daß die neueren Fortschritte der Silicon-Forschung durch mengenmäßig größere Ansätze bei der Hydrolyse von Organo-silicium-halogeniden ausgelöst wurden. Es erleichtert die Übersicht, wenn nun zunächst eine formale Zusammenstellung einiger Typen niedermolekularer Poly-silicone mit den zugehörigen Hinweisen auf die Methoden ihrer Strukturbestimmung gegeben und erst dann noch einmal auf die in den realen Kondensationsprodukten enthaltenen Poly-silicone und deren Reaktionen eingegangen wird.

8. Typen niedermolekularer Methyl-poly-silicone.

(Methoden der Strukturbestimmung.)

Das Schulbeispiel der Silicone sind die Methyl-poly-silicone. Sie werden im Rahmen dieser Darstellung in den Vordergrund gerückt.

Tabelle 7. *Beispiele für Methyl-poly-silicone mit je 5 Si-Atomen im Molekülverband.*

Typus	Struktur und Konstanten	CH_3/Si	Literatur
Cyclisch D_5 $[(CH_3)_2SiO]_5$	 Schmelzpunkt $-44°$ $(-38°)$ Siedepunkt $+204{,}5°$	2	(*44*) (*75*)
Linear D_3M_2 $(CH_3)_3SiO[(CH_3)_2SiO]_3Si(CH_3)_3$	 Schmelzpunkt $-84°$ Siedepunkt $+229°$	2,4	(*45*) (*120*)
Verzweigt M_4Q $(CH_3)_{12}Si_5O_4$	 Schmelzpunkt $-54°$ Siedepunkt $+91°$ (9 Torr)	2,4	(*122*)
Cyclisch + verzweigt (bicyclisch) D_3T_2 $(CH_3)_8Si_5O_6$	 Schmelzpunkt $+118°$ Siedepunkt $+203°$	1,6	(*99*)
Spiro D_4Q $(CH_3)_8Si_5O_6$	 Schmelzpunkt $+121°$ Siedepunkt $+204°$	1,6	(*99*)

(Die Punkte • bedeuten CH_3-Druppen. Die Symbole M, D, T, Q bezeichnen die Baugruppen im Sinne der auf S. 8 gegebenen Definition als Derivate von Methyl-silicium-monochlorid = M, -dichlorid = D, -trichlorid = T, Siliciumtetrachlorid = Q.)

Tabelle 7 läßt sich folgendermaßen verallgemeinern:

1. Methyl-poly-silicone erscheinen als:

cyclische Polymere der Baugruppe D = $(CH_3)_2SiO$. $D_x = [(CH_3)_2SiO]_x$, bisher rein hergestellt für $x = 3$ bis > 9 (*44*), (*83*).

lineare Polymere der Baugruppe D mit der Baugruppe M als Endgruppen = $(CH_3)_3SiO[(CH_3)_2SiO]_xSi(CH_3)_3 = MD_xM$, bisher rein hergestellt für $x = 0$ bis > 9 (*45*), (*83*), (*120*).

$x = 0$ bedeutet hier: Hexamethyl-disiloxan.

verzweigte und bicyclische Polymere der Baugruppe D, wobei entweder Baugruppe T oder Baugruppe Q Verzweigung von (Si—O—Si)-Ketten bewirkt. Mindestens 10 verschiedene Verbindungen sind rein hergestellt, die auf Grund der chemischen Analyse (CH_3/Si) bicyclische Formulierung zulassen; für einige derselben sind die Formulierungen experimentell gesichert (*99*). Wenn an ein Si-Atom an Stelle von 2 Methylgruppen eine Methyl- und eine Phenylgruppe gebunden ist, sind cis- und trans-Isomere cyclischer Poly-silicone möglich (*43*), (*83*). Beispiel: $[(C_6H_5)(CH_3)SiO]_3$, cis = Schmelzpunkt 99,5°, trans = Schmelzpunkt 39,5°.

2. Die *Schmelzpunkte* erreichen in der Reihe der linearen Methyl-poly-silicone besonders niedrige Werte. Hier ist bei einzelnen Verbindungen auch die Differenz zwischen Schmelzpunkt und Siedepunkt besonders groß, bei D_3M_2 etwa 300°! Die Anfangsglieder in der Reihe der cyclischen Methyl-poly-silicone krystallisieren leichter. Ihre Eigenschaften nähern sich den Eigenschaften der linearen Methyl-poly-silicone, wenn ihre Ringe größer werden. Weitgehend vollständige Tabellen mit den Werten für Siedepunkte, Schmelzpunkte, für Temperaturkoeffizienten des Dampfdruckes, des Mol-Volumens, der Viscosität und der Verdampfungswärme, schließlich auch der Dipolmomente liegen vor. Sie geben insgesamt ein Bild der umfangreichen, systematischen Arbeit, die wegen der allgemeinen Bedeutung dieser Stoffe für die rationelle Beschreibung geleistet worden ist (*43*), (*44*), (*45*), (*83*), (*90*), (*91*), (*102*), (*120*). Da die niedermolekularen Methyl-poly-silicone polymerhomologe Reihen bilden, wie sie H. STAUDINGER definiert und für die Aufklärung der hochmolekularen Kohlenstoffverbindungen angewandt hat (*108*), (*109*), ist versucht worden, die meßbaren physikalischen Eigenschaften als Funktionen des Polymerisationsgrades x darzustellen, damit von der bekannten Struktur der isolierbaren niedermolekularen Verbindungen auf die Struktur der nichtisolierbaren hochmolekularen Verbindungen extrapoliert werden kann. Als Einzelbeispiel seien Messungen des Dampfdruckes herausgegriffen. Die Größenordnung des Dampfdruckes (*102*) linearer Methyl-poly-silicone ist für

x =	0	2	4	6	8
Torr =	70	0,5	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}

Für die Temperaturunabhängigkeit des Dampfdruckes (p) gilt bei den linearen (1) und bei den cyclischen (2) Methyl-poly-siliconen

$$1.\ \log p = 6{,}28 - \frac{1030}{T} + \left[0{,}443 - \frac{360}{T}\right] \cdot x \qquad (x \geq 5),$$

$$2.\ \log p = 7{,}07 - \frac{1190}{T} + \left[0{,}265 - \frac{294}{T}\right] \cdot x.$$

(Die wichtige Eigenschaft des geringen Temperaturkoeffizienten der Viscosität bei linearen Methyl-poly-siliconen wird auf S. 47 erwähnt.)

Methoden der Strukturbestimmung.

Beiträge zur Strukturbestimmung der niedermolekularen Methyl-poly-silicone liefern unter anderem die folgenden Untersuchungen:

1. Die chemische Analyse. Das erste wichtige Kennzeichen für ein Methyl-poly-silicon ist das Verhältnis CH_3/Si. Trotzdem schon aus Tabelle 7 hervorgeht, daß diese Verhältniszahl nicht zur Unterscheidung aller Typen genügt, bildet die vollständige Bestimmung der Bestandteile die Grundlage aller Aussagen über die Struktur silico-organischer Verbindungen. Im Abschnitt 6 auf S. 25 ist darauf hingewiesen worden, daß auch die Trennung der Organo-silicium-halogenide fortlaufend durch chemische Analyse kontrolliert werden muß, weil die Fraktionen der Destillation durch Siedepunktsanalyse nicht immer genügend genau identifiziert werden können.

Die analytischen Methoden für silico-organische Verbindungen erhalten durch mehrere Umstände ein besonderes Gepräge. Viele Verbindungen sind leicht flüchtig und erleiden an feuchter Luft Hydrolyse. Viele Verbindungen sind schwer flüchtig und schwer oxydierbar; bei ihrer Verbrennung im Sauerstoffstrom kann sich Siliciumcarbid SiC bilden, das nachträglich nur unvollständig in Siliciumdioxyd und Kohlendioxyd überführt wird. Die Oxydation der Verbindungen im Dampfzustand liefert feinsten SiO_2-Rauch, der durch dichte Filter aufgefangen werden muß. Zur Einwaage der Stoffproben darf meistens kein Gefäßmaterial angewandt werden, das Silicium bzw. Siliciumdioxyd abgibt; Silicatgläser scheiden deshalb bei vielen Operationen aus. Die erprobten Methoden richten sich nach den verschiedenen Zwecken der Analysen. Tabelle 8 enthält einige Hinweise.

Als die Aufschlußmethode, die allgemeinste Anwendung erlaubt, kann der Aufschluß mit Na_2O_2 in der sog. PARR-Bombe angesehen werden.

2. Molekulargewichtsbestimmungen. Niedermolekulare Methyl-poly-silicone sind unlöslich in Wasser, löslich in vielen organischen Lösungsmitteln. Auch ihre Löslichkeit in Campherschmelzen macht Molekulargewichtsbestimmungen auf der Grundlage des VAN T'HOFFschen Gesetzes möglich. Außerdem kann in bestimmten Grenzen die Beziehung zwischen

Tabelle 8. *Analysenmethoden für silico-organische Verbindungen.*

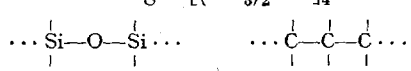
Analyse von Verbindungen		Methode	Literatur
mit Siedepunkten	Beispiel		
$< 200°$ C	R_xSiHal_{4-x}	Alkalischer Aufschluß mit Na_2O_2 in geschlossenen Gefäßen (z. B. PARR-Bombe mit Nickelauskleidung).	(*31*) (*119*) (*124*)
200—250° C	$R_xR'_ySiHal_{4-(x+y)}$	Hydrolyse mit anschließendem saurem Aufschluß im Platintiegel, „Vycor"-Gefäß oder KJELDAHL-Kolben.	(*35*)
$> 250°$ C	$[R_2SiO]_x$	Saurer Aufschluß mit HNO_3, H_2SO_4, $HClO_4$ in offenen Gefäßen, KJELDAHL-Kolben oder „Vycor"-Gefäß oder Vollanalyse durch trockene Oxydation im Sauerstoffstrom.	(*33*) (*47*) (*54*) (*81*) (*83*)

der Viscosität verdünnter Lösungen und dem Molekulargewicht der gelösten Verbindungen angewandt werden (*1*).

3. Bestimmung geometrischer Eigenschaften der Molekülverbände. Es ist zulässig, die zahlreichen experimentellen Wege, welche schließlich zu einer lückenlosen Stereochemie der Methyl-poly-silicone führen werden, vorerst zusammenfassend zu erwähnen und nur einige der bisher erworbenen Grundvorstellungen anzuführen.

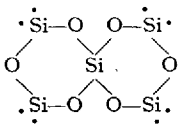
Soweit Methyl-poly-silicone zur Krystallisation gebracht werden können — dies ist bei den ersten Gliedern der cyclischen Reihe, sowie bei den verzweigten bzw. bicyclischen Verbindungen wegen der günstig liegenden Schmelzpunkte besonders leicht der Fall (Tabelle *7*) —, geben *Krystallstrukturuntersuchungen* Aufschlüsse über geometrische Verhältnisse. An flüssigen Verbindungen können *Dipolmessungen* ausgeführt werden.

Wenn bei dem Aufbau eines Molekülmodells für den Winkel der (Si—O—Si)-Bindung 160°, für die Valenzwinkel am Si-Atom 109° (tetraedrische Koordination) angenommen werden, dann ergeben sich für cyclische Methyl-poly-silicone $[(CH_3)_2SiO]_x$ mit $x > 3$ gewellte Ringe, die weniger dicht als entsprechende Kohlenwasserstoff-Ringe sind (*100*). In den Kohlenwasserstoff-Ringen mit (C—C)-Bindungen trägt jedes C-Atom im Ring, in den Silicon-Ringen dagegen nur jedes *zweite* Atom (Si) Substituenten. Vgl. $[(CH_3)_2SiO]_4$ mit Cyclo-Octan C_8H_{16}:



Das trimere Methyl-poly-silicon $[(CH_3)_2SiO]_3$ mit dem ebenen (Si—O—Si)-Ring hat Ringspannung. Ringe mit $x > 8$ sind spannungsfrei.

Tabelle 9. *Stereochemische Daten für einige Methyl-poly-silicone (und Phenyl-poly-silicone).*

Verbindung	Methode	Befund	Literatur
$[(CH_3)_2SiO]_3$ D_3, cyclisch, krystall.	röntgenographisch	ebener (Si—O—Si)-6-Ring	(*28*)
$[(CH_3)_2SiO]_8$ D_8, cyclisch krystall.	röntgenographisch	gewellter (Si—O—Si)-16-Ring	(*28*)
 $\cdot = CH_3$ spiro, krystall. $(CH_3)_8Si_5O_6$	röntgenographisch	2 (Si—O—Si)-6-Ringe am gemeinsamen Si-Atom um 90° gegeneinander verdreht. Abstand Si—O 1,69 Å (kürzer als für unpolare Bindung erwartet). Abstand Si—C 1,90 Å (wie für unpolare Bindung erwartet).	(*87*)
$(CH_3)_3Si—O—Si(CH_3)_3$ MM flüssig	Dipolmoment	Winkel Si Si $160 \pm 15°$	(*91*)
$[(C_6H_5)_2SiO]_3$ $[(C_6H_5)_2SiO]_4$ krystall.	morphologisch und röntgenographisch	Polymorphie	(*46*)

Ganz anderer Art ist die *Vermessung monomolekularer Filme.* Lineare Methyl-poly-silicone spreiten auf Wasser. Abb. 4 ist eine vereinfachte graphische Wiedergabe der Messungen, die H. W. Fox, P. W. Taylor und W. A. Zisman (*24*) mit Hilfe der Filmwaage über die Abhängigkeit der Flächenbeanspruchung und der Filmdicke vom Flächendruck an dem linearen Methyl-poly-silicon $(CH_3)_3Si—O[(CH_3)_2SiO]_{15}—Si(CH_3)_3$ ausgeführt haben. Die ausgezeichneten Punkte *A*—*E* ließen sich an Hand eines maßstabgerechten Molekülmodells interpretieren, und zwar führten die Messungen *am realen monomolekularen Film* und die Messungen *am Modell* mit folgender Annahme zu angenähert übereinstimmenden Werten für die Filmdicke auf dem Wasser und für den Durchmesser des Modells:

1. Die Moleküle liegen mit ihrer Längsachse parallel zur Wasseroberfläche.

2. Die Si- und O-Atome sind als „hydrophile" Gruppen dem Wasser zugekehrt, die „hydrophoben" CH_3-Gruppen dem Wasser abgekehrt. Dieser Zustand liegt vor im stark expandierten Film bei Punkt *A* (caterpillar = Raupenstruktur I).

3. Bei zunehmendem Flächendruck und entsprechender Verdichtung des Films werden durch Stauchung der Moleküle Si- bzw. O-Atome aus der Wasseroberfläche herausgedreht, bis schließlich verwundene Moleküle entstehen, in denen die (Si—O—Si)-Kette eine Schraubenlinie mit einer Periode von etwa 6 (Si—O)-Einheiten beschreibt. Dieser Zustand liegt vor bei Punkt *C* (helix = Schrauben- oder Schneckenstruktur II).

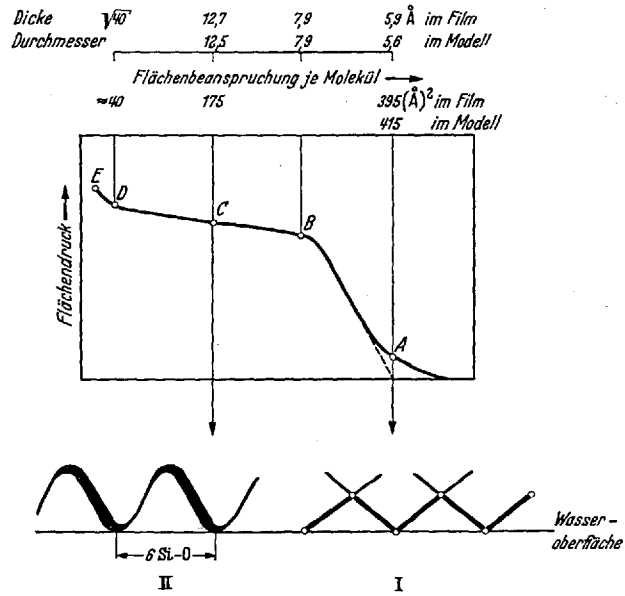


Abb. 4. Vermessung eines Methyl-poly-silicon-filmes und eines Molekül-Modells (nach FOX, TAYLOR und ZISMAN).

Obschon den vergleichenden Messungen am realen Film und am Modell einige grundsätzliche Mängel anhaften, vermitteln sie ein anschauliches Bild von der leichten Verdrehbarkeit des Moleküls eines linearen Methyl-poly-silicons. Diese Verdrehbarkeit hängt nicht mit dem besonderen Zustand des Silicons im monomolekularen Film zusammen. Sie ist eine charakteristische Eigenschaft dieser Verbindungen.

4. Bestimmung von Bindungsarten in den Molekülverbänden. N. WRIGHT und M. G. HUNTER (*122*) haben die Infrarotabsorption verdünnter Lösungen von Methyl-poly-siliconen in Schwefelkohlenstoff im Bereich 2—14 μ gemessen und die *Wellenlängen*, sowie die *Intensitäten* der Absorptionsmaxima mit den entsprechenden Werten analoger Kohlenstoffverbindungen verglichen. In allen Silicon-Spektren trat das Maximum besonders stark hervor, das der Bindung

Si—O—Si

zugeordnet werden muß. Es war gegenüber dem Maximum der Bindung

C—O—C

in Äthern nach kürzeren Wellen verschoben und übertraf dessen Intensität erheblich. Anhaltspunkte für eine Bindung

Si=O,

die der Bindung

C=O

in Acetonen entsprechen würde, ergaben sich nicht. Silicone sind keine Acetone. Sie sind *Siloxane*, d. h. Kondensationsprodukte von Silanolen. Übereinstimmend mit der Berechnung des ionogenen Anteils in den (Si—O)-Bindungen bzw. in den (C—O)-Bindungen aus den Differenzen der Bindungsenergien für Si—Si, Si—O, O—O bzw. für C—C, C—O, O—O durch L. PAULING (*77*) wurde aus dem Intensitätsverhältnis der Infrarotabsorption der (Si—O)- und der (C—O)-Bindung geschlossen, daß der ionogene Anteil in ersteren ungefähr doppelt so groß wie in den letzteren ist.

Die Aufnahme von Infrarotabsorptionsspektren eignet sich auch für die Analyse von Methyl-silicon-Gemischen.

Anlaß zu einer Diskussion der Bindungsarten bieten ebenfalls die Röntgendiagramme krystallisierter Methyl-poly-silicone, z. B. der Spiro-Verbindung $(CH_3)_8Si_5O_6$ (Tabelle 9) (*87*).

Werden die Ergebnisse der Untersuchungsmethoden 1—4 zusammengefaßt, dann lassen sich für die Methyl-poly-silicone die folgenden allgemeingültigen Kennzeichen ihrer Struktur feststellen:

1. Gewichtsmäßig überwiegen die sog. anorganischen Bestandteile [in der Baugruppe D = $(CH_3)_2SiO$ machen die CH_3-Gruppen nur 24 Gewichtsprozent aus].

2. Die (Si—O—Si)-Kette bzw. der (Si—O—Si)-Ring bilden gewissermaßen das Rückgrat der Verbindungen. Sie sind von CH_3-Gruppen eingehüllt.

3. Die (Si—O—Si)-Kette besitzt, wenn die Si-Atome nur mit CH_3-Gruppen verbunden sind, eine große innere Beweglichkeit.

4. Beherrschend sind die Bindungen Si—O—Si (mit einem großen ionogenen Anteil) und die Bindungen Si—C (mit annähernd unpolarem Charakter). Beide bedingen thermische und chemische Stabilität.

9. Spezielle Reaktionen.

Die Chemie der Silicone, welche sich aus der Chemie silico-organischer Verbindungen entwickelte, hat umgekehrt die Chemie der silico-organischen Verbindungen und damit allgemein die Chemie des

Siliciums befruchtet. Die Zahl neuer Verbindungen und neuer Reaktionen vermehrt sich schnell (*19*), (*19a*). In diesem Abschnitt werden einige Gesichtspunkte angegeben, unter denen sich Einzelmitteilungen miteinander in Beziehung bringen lassen. Dabei werden als spezielle Reaktionen solche Reaktionen angesehen, die von der Hauptreaktionsfolge

Methyl-silicium-chloride → Methyl-silanole → Methyl-poly-silicone

abzweigen bzw. die Mannigfaltigkeit der Stoffgruppe vermehren. „Speziell" soll nicht besagen, daß die betreffenden Reaktionen nur einmalige Bedeutung haben. Viele dieser Reaktionen sind allgemein anwendbar und führen wieder zu der Hauptreaktionsfolge zurück. Wenn die Betrachtung vom *Silicium* ausgeht, interessieren in erster Linie Substitutionsreaktionen am einzelnen Si-Atom, sowie Reaktionen, welche die (Si—O—Si)-Kette angreifen.

a) Verbindungen R_xSiX_{4-x} *(= Derivate des Siliciumtetrachlorids).*

Es bedeuten R = organische Gruppen, die mit (Si—C)-Bindungen an das Si-Atom gebunden sind. Sie können beliebig groß, gesättigt und ungesättigt sein: Methyl-, Äthyl-, Phenyl-, Vinyl- (*42*) usf. Je größer diese Gruppen werden, um so mehr tritt der Einfluß der (Si—C)-Bindung auf die Eigenschaften des gesamten Molekülverbandes zurück (*83*).

X = „negative" Gruppen, d. h. Halogen-Atome F (*72*) bis J (*83*), $-NH_2$ (*118*), —NCO (*21*), (*22*), —NCS (*2*), (*20*), $-OC_2H_5$ (*12*), (*19a*), $-OC_4H_9$, $=SO_4$ (*105*) usf.

Die Herstellung der Organo-silicium-*fluoride* geschieht mit Hilfe der GRIGNARDschen Synthese, wobei an Stelle des Siliciumtetrachlorids (Abschnitt 6, S. 17) das Siliciumtetrafluorid tritt; hier wird das Monofluorid $(CH_3)_3SiF$ erhalten. Fluorreichere Verbindungen bilden sich bei dem Umsatz von Organo-silicium-chloriden mit den Fluoriden des Calciums, Zinks, Antimons (*8*). Neben Fluor kann gleichzeitig Chlor an Silicium gebunden sein (*83*). Fluorwasserstoff, gebildet im Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure und Ammoniumfluorid, spaltet die (Si—O—Si)-Kette des Hexamethyl-di-siloxans auf; mit guter Ausbeute bildet sich Trimethyl-silicium-fluorid (*80*):

$$(CH_3)_3Si—O—Si(CH_3)_3 \xrightarrow[NH_4F]{H_2SO_4} (CH_3)_3SiF.$$

Die Substitution des Cl-Atoms am Si-Atom durch *Äthoxy-Gruppen* ist vergleichbar mit der Herstellung von Ortho-Kieselsäure-Äthylester aus Siliciumtetrachlorid und Alkohol (*12*). Neuerdings haben H. J. EMELÉUS und S. E. ROBINSON (*19a*) die Verbindungen

$(C_2H_5)Si(OC_2H_5)_3$	Siedepunkt + 158,9°
$(C_2H_5)_2Si(OC_2H_5)_2$	Siedepunkt + 157,3°
$(C_2H_5)Si(OCH_3)_3$	Siedepunkt + 120,9°
$(C_2H_5)_2Si(OCH_3)_2$	Siedepunkt + 128,1°

durch Umsetzung von R_xSiCl_{4-x} mit Natrium-Alkoholat hergestellt. Solche Verbindungen enthalten (Si—C)-Bindungen und (Si—O—C)-Bindungen. Die hydrolytische Spaltbarkeit der (Si—O—C)-Bindungen hängt ab von der Art der anderen am Si-Atom hängenden Gruppen. Es ist nicht zweckmäßig, aus bloß systematischen Gründen silico-organische Verbindungen mit (Si—C)-Bindungen einerseits, mit (Si—O—C)-Bindungen andererseits scharf voneinander zu trennen (*62*). Die oben aufgezählten Methoxy- und Äthoxy-Verbindungen hydrolysieren an allen (Si—O—C)-Bindungen. Die (Si—C)-Bindungen zu den Äthylgruppen bleiben dabei erhalten.

Besonders anschaulich wird die gegenseitige Beeinflussung der Substituenten am Si-Atom bei den *Butoxy-Derivaten* des Siliciumtetrachlorids (*118*). Bei der Hydrolyse von $(tert.\text{-}C_4H_9O)_2SiCl_2$ bleibt die (Si—O—C)-Bindung zur Butoxy-Gruppe erhalten; nur die Cl-Atome werden abgespalten; über ein Disilanol entstehen, wie bei $(CH_3)_2SiCl_2$, Silicone. Die tertiäre Butoxy-Gruppe ermöglicht die Fixierung von zwei NH_2-Gruppen am Si-Atom (*70*). Auch dieses Di-amin hydrolysiert unter Bildung von Siliconen. Somit stehen Reaktionen mit verschiedenen Nebenprodukten für die Bildung von Siliconen zur Verfügung:

1. $(CH_3)_2SiCl_2 \xrightarrow{+H_2O} [(CH_3)_2SiO]_x + 2\,HCl,$ (saures Medium)
2. $(tert.\text{-}C_4H_9O)_2Si(NH_2)_2 \xrightarrow{+H_2O} [(tert.\text{-}C_4H_9O)_2SiO]_x + 2\,NH_3,$ (alkalisches Medium)
3. $(CH_3)_2Si(OC_2H_5)_2 \xrightarrow{+H_2O} [(CH_3)_2SiO]_x + 2\,C_2H_5OH.$ (alkoholisches Medium)

Die Organo-silicium-diamine leiten über zu einer neuen Art der Kettenbildung (*118*). Sie spalten beim Erhitzen Ammoniak ab. Es entstehen Silazane $[R_2Si—NH—SiR_2]_x$.

b) Verbindungen R_xSiHCl_{3-x} *(= Derivate des Silicochloroforms).*

Formal würden sich Derivate des Silicochloroforms $SiHCl_3$ gemeinsam mit Derivaten des Siliciumtetrachlorids $SiCl_4$ aufzählen lassen. Schon aus der Tabelle 3 im Abschnitt 5, S. 13, ging hervor, daß man sowohl aus der Reihe der Chlorosilane mit der Grundsubstanz SiH_4, als auch aus der Reihe der Methyl-silicium-chloride mit der Grundsubstanz $SiCl_4$ zu den Methyl-poly-siliconen vorstoßen kann. Für die experimentelle Herstellung von Siliconen, oder allgemeiner von silico-organischen Verbindungen, bedeutet es jedoch einen wesentlichen Unterschied, ob mit $SiHCl_3$ oder mit $SiCl_4$ als stofflicher Basis der Umsetzungen gerechnet werden darf. Silicochloroform entsteht bei der Reaktion von Chlorwasserstoff, Siliciumtetrachlorid bei der Reaktion von Chlor mit Silicium.

Die Substitution aller Cl-Atome im Silicochloroform durch organische Gruppen ist beinahe ebenso lange bekannt wie die Substitution der Cl-Atome im Siliciumtetrachlorid. H. J. EMELÉUS und S. R. ROBINSON (*19a*) haben nun auch die *stufenweise* Substitution der Cl-Atome im Silicochloroform mit Hilfe der GRIGNARDschen Synthese untersucht. Sie isolierten die Verbindungen

$(CH_3)SiHCl_2$	30—40,5° nicht vollständig getrennt.
$(C_2H_5)SiHCl_2$	34—75,5°.
$(C_2H_5)_2SiHCl$	99—100°.
$(C_6H_5)SiHCl_2$	65,0—65,3° (10 Torr).
$(C_6H_5)_2SiHCl$	140—145° (7 Torr).
$(C_6H_5 \cdot CH_2)SiHCl_2$	48° (2 Torr).
$(C_6H_5 \cdot CH_2)_2SiHCl$	146—148° (etwa 1 Torr).

Bei der Hydrolyse verhalten sich diese Verbindungen wie D und T, d. h. die (Si—C)-Bindungen bleiben erhalten, (Si—H)- und (Si—Cl)-Bindungen werden primär in (Si—OH)-Bindungen überführt.

c) Substitutionen in R.

Die OH-Gruppe des Trimethyl-silicium-methanols $(CH_3)_3SiCH_2 \cdot OH$ hat stärker saure Eigenschaften als die vergleichbaren Kohlenstoffverbindungen (*107*). Die (Si—C)-Bindung im Trichlormethyl-siliciumtrichlorid $(Cl_3C)SiCl_3$ wird im Gegensatz zu der (Si—C)-Bindung im Methyl-silicium-trichlorid hydrolytisch gespalten; neben Kieselsäure entsteht Chloroform

$$(CCl_3)SiCl_3 \xrightarrow{+4H_2O} CCl_3H + Si(OH)_4 + 3\,HCl\,.$$

d) Die einfache Si—O—Si-*Brücke.*

H. J. EMELÉUS und D. S. PAYNE (*19*) haben auf verschiedenen Wegen Hexachloro-disiloxan $Cl_3Si—O—SiCl_3$ hergestellt und dafür die Reaktion von Siliciumtetrachlorid mit Sauerstoff bei 900° als günstig gefunden. (Vgl. Abschnitt *7*, S. 28: Siliciumoxychloride.) Mit Hilfe der GRIGNARDschen Synthese wurden die Cl-Atome stufenweise durch organische Gruppen ersetzt. Isoliert wurden als Derivate von

$Cl_3Si—O—SiCl_3 = Si_2OCl_6$

Monoäthyl-pentachlorid	Siedepunkt 163—164° C
Diäthyl-tetrachlorid	Siedepunkt 186—187° C
Triäthyl-trichlorid	Siedepunkt 202—203° C
Tetraäthyl-dichlorid	Siedepunkt 215—216° C
Pentaäthyl-monochlorid	Siedepunkt 226—227° C
Diphenyl-tetrachlorid	Siedepunkt 319—320° C
Dimethyl-tetrachlorid	Siedepunkt 143—144° C (in reinem Zustand farblos, färbt sich bei Berührung mit Luft).

In der Originalmitteilung sind auch die Siedepunkte bei niederen Drucken angegeben. Pentaäthyl-monochlorid läßt sich durch Hydrolyse in das beständige Silanol $(C_2H_5)_3Si—O—Si(C_2H_5)_2OH$ überführen; vgl.

Tabelle 4 im Abschnitt 5, S. 15. Diäthyl-tetrachlorid kann photochemisch in den Äthylgruppen vollständig chloriert werden.

Bei der Hydrolyse der Cl-haltigen Verbindungen läßt sich durch anschließende Kondensation die im Hexachloro-disiloxan begonnene (Si—O—Si)-Kette fortsetzen. Die Reaktionsfolge, die hierbei zu Siliconen führt, unterscheidet sich formal nur in der Entstehung der ersten (Si—O—Si)-Brücke von der Bildung der Silicone aus R_xSiCl_{4-x}.

e) Übergänge zu Siliconen.

α) *Unvollständige Hydrolyse von Organo-silicium-chloriden:* Ebenso wie die Hydrolyse von Siliciumtetrachlorid kann die Hydrolyse von Dimethyl-silicium-dichlorid so gelenkt werden, daß sie unvollständig verläuft; vgl. Abschnitt 7, S. 28. Es ist auch hier zweckmäßig, den Vorgang in Lösung (Äther) zu verlegen. Gefaßt wurden die Anfangsglieder der Reihe $Cl—[Si(CH_3)_2O]_x—Si(CH_3)_2—Cl$ mit $x = 1$ bis etwa 5. Höhere Glieder waren schwerer zu isolieren. Die endständigen Cl-Atome sind weiterer Hydrolyse zugänglich. Daraus entstehen endständige OH-Gruppen, die zu intermolekularer Kondensation und damit zur Vergrößerung der Molekülverbände Anlaß geben (*75*).

β) *Unvollständige Kondensation in höhermolekularen Siliconen:* Daß sich bei der üblichen Hydrolyse von $(C_2H_5)_2SiCl_2$ nicht sofort vollständige Kondensation anschließt, geht schon aus dem Verhalten der Hydrolyse- und Kondensationsprodukte beim Erhitzen hervor (Abschnitt 6, S. 19): das 1-phasige Siliconöl gibt Wasser ab, das sich beim Zurücktropfen nicht mehr mit dem Öl mischt. Auch der im Abschnitt 5, S. 14, beschriebene Versuch von W. Patnode und D. F. Wilcock (*75*) über die vollständige Hydrolyse von $(CH_3)_2SiCl_2$ mit einem großen Überschuß von Wasser führte zu der Annahme, daß in den schwerflüchtigen Fraktionen der entstandenen Methyl-poly-silicone *höhermolekulare* Verbindungen vom Typus $HO—[Si(CH_3)_2O]_x—Si(CH_3)_2—OH$ vorkommen. Isoliert wurden sie nicht.

Als analytische Reaktionen zum Nachweis der endständigen OH-Gruppen können sowohl die *Viscositätserhöhung* nach dem Erhitzen der Siliconöle (= Folge der Molekülvergrößerung durch Kondensation) als auch ihre *Umsetzung mit Bleioxyd* angesehen werden (*5*), (*74*). Das gelbe PbO wird durch Bildung eines Methyl-poly-silicon-Bleisalzes weiß. Voraussetzung für diese Reaktion ist Abwesenheit von Cl.

f) Angriff der Si—O—Si-*Kette.*

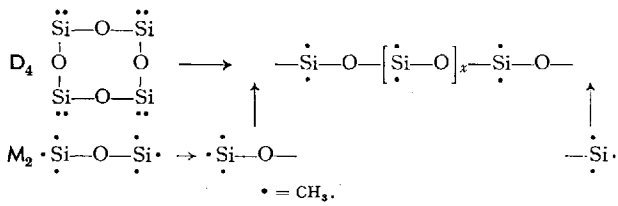
α) Durch *Flußsäure:* vgl. S. 38.

β) Durch *Schwefelsäure:* Trimethyl-silicium-monochlorid oder Trimethyl-silanol bilden mit konzentrierter Schwefelsäure krystallisierbares

Trimethyl-silicium-sulfat mit dem Schmelzpunkt 45—46°. Verseifung führt zu Hexamethyl-Siloxan (*105*).

$$2\,(CH_3)_3SiOH \xrightarrow{+H_2SO_4} [(CH_3)_3Si]_2SO_4 \xrightarrow{+H_2O} (CH_3)_3Si{-}O{-}Si(CH_3)_3$$

Der Vorgang ist die Grundlage für das Verständnis der Molekülvergrößerung des cyclischen Methyl-poly-silicons $[(CH_3)_2SiO]_4 = D_4$ unter der Einwirkung von kleinen Mengen konzentrierter Schwefelsäure. Nach langdauerndem Schütteln einer Ätherlösung mit Schwefelsäure bei 20°, Auswaschen und Trocknen wird ein vielfach höheres Molekulargewicht (z. B. D_{37}) gefunden. D. h. der Si—O—Si-Ring in D_4 wird gesprengt, an den Enden der offenen Kette Schwefelsäure gebunden; anschließende Hydrolyse und Kondensation bewirkt Kettenverlängerung. Wird dagegen dem cyclischen Methyl-poly-silicon D_4 das Hexamethyl-disiloxan $(CH_3)_3Si{-}O{-}Si(CH_3)_3 = M_2$ zugemischt, dann liefert das letztere bei der Behandlung des Gemisches mit konzentrierter Schwefelsäure und Wasser die Endglieder für die zunächst offenen Silicon-Ketten, die aus D_4 stammen, und deshalb werden nun in den Reaktionsprodukten niedermolekulare lineare Methyl-poly-silicone $(CH_3)_3SiO[(CH_3)_2SiO]_xSi(CH_3)_3$ mit $x = 1$—4 gefunden:



Vorgänge dieser Art sind quantitativer Behandlung zugänglich (*23*), (*75*), (*100*). Die dafür notwendigen experimentellen Unterlagen werden wie folgt gewonnen: Bekannte Mengen reiner Methyl-poly-silicone werden gemischt. Die Gemische werden mit konzentrierter Schwefelsäure bei 20° so lange geschüttelt, bis Konstanz der Viscosität erreicht ist. Dann werden die Gemische gewaschen, getrocknet und durch Destillation fraktioniert. Aus dem Konzentrationsverhältnis der gefundenen Bestandteile wird die Gleichgewichtskonstante berechnet. Sie hat, wenn die Ausgangsprodukte nur *lineare* Methyl-poly-silicone waren, angenähert den Wert 1. Das heißt das Gleichgewicht

$$MD_{x-2}M + MD_{y-2}M \leftrightarrow MD_{x+z-2}M + MD_{y-z-2}M$$

kann als die Folge einer statistischen Verteilung der Kettenlänge aufgefaßt werden. Es handelt sich um eine „Äquilibrierung" der Kettenlängen. In Gemischen, die neben linearen *cyclische* Methyl-poly-silicone enthalten, ist die Bildung von D_4 bevorzugt; weder bei Versuchen in Abwesenheit eines Lösungsmittels, noch bei Versuchen in Lösungen

(CCl_4) wurde D_3 gefunden, das wegen der größeren Spannungen im Ring (vgl. Abschnitt 8, S. 34) unbeständiger ist (*100*).

γ) Durch *Kaliumhydroxyd:* Da in Methyl + Phenyl-poly-siliconen die (Si—C)-Bindungen gegen konzentrierte Schwefelsäure nicht so beständig wie in Methyl-poly-siliconen sind (*55*), ist neben der Äquilibrierung mit Schwefelsäure auch die Äquilibrierung mit Kalilauge eingeführt worden (*67*). Auch hierbei werden (Si—O—Si)-Ringe aufgespalten. Die Reaktionsfolge entspricht dem vereinfachten Schema

$$\text{Si—O—Si} \xrightarrow{+\text{KOH}} \text{Si—O—K} \xrightarrow{+H_2O} \text{Si—O—H}$$

$$2\,\text{Si—O—H} \xrightarrow{-H_2O} \text{Si—O—Si}.$$

δ) *Thermische* Aufspaltung: Wenn Siliconöl, das bei der vollständigen Hydrolyse von $(CH_3)_2SiCl_2$ entsteht, destilliert wird, werden unter 300° leichtflüchtige Fraktionen niedermolekularer Methyl-poly-silicone D_{3-6} erhalten. Der schwerflüchtige höhermolekulare Rückstand gibt jedoch bei 400° erneut *niedermolekulare* Methyl-poly-silicone ab. Demnach findet bei höheren Temperaturen eine Aufspaltung von (Si—O—Si)-Ketten bzw. Ringen statt. Unter den Spaltprodukten erscheint im Gegensatz zu der Aufspaltung mit Schwefelsäure bei 20° (vgl. oben *β*) auch das trimere D_3. In einem Versuch von W. PATNODE und D. F. WILCOCK (*75*) war das Verhältnis D_3:D_4 in dem Destillat, das nicht über 300° erhitzt war (I), wesentlich verschieden von dem Destillat, das über 400° erhitzt war (II):

	D_3	D_4	D_5	D_6	$> D_6$
I	1	82	12	3	2%
II	44	24	9	10	13%

Verzweigte Methyl-poly-silicone können über 375° in bicyclische Methyl-poly-silicone überführt werden (*99*); vgl. Abschnitt 8, Tabelle 7, S. 31.

10. Silicone als Werkstoffe.

1947 hat E. BRANDENBERGER in der Einleitung seines Buches „Grundlagen der Werkstoffchemie" (*9*) auf die bekannte Tatsache hingewiesen, daß jede Werkstofforschung weitgehend mit der Chemie der für konstruktive Zwecke anwendbaren Stoffe verflochten ist, „weil die fortgesetzte Steigerung der an die Werkstoffe gestellten technischen und wirtschaftlichen Ansprüche nachdrücklich die vermehrte Würdigung der konstitutionellen Verhältnisse, und zwar nicht nur in Einzelfällen, sondern als **allgemeine Regel**, verlangt". (Im Originaltext sind die fettgedruckten Worte nicht besonders hervorgehoben.)

Wenn im Rahmen dieser Darstellung der *Chemie* der Silicone Werkstofffragen berührt werden, dann kann es sich hier nur darum handeln,

nochmals auf den *Ursprung einiger makroskopischer Stoffeigenschaften in der Entstehung und in der Struktur der Silicone* hinzuweisen. Schon im Abschnitt 1, S. 3, ist hervorgehoben worden, daß das Interesse, das der Stoffgruppe Silicone entgegengebracht wird, nicht vorzeitig oder ausschließlich durch die vielerorts stark betonten Möglichkeiten der Verwendbarkeit bestimmt werden darf, und deshalb sind auch im Abschnitt 5, S. 16, Werkstoffeigenschaften ohne Rücksicht auf spezielle Anwendungen kurzerhand als makroskopische Stoffeigenschaften definiert worden.

Eine auszugsweise Aufzählung von physikalischen Daten [mechanische, elektrische Eigenschaften usf. (*102*)] handelsüblicher Silicon-Werkstoffe, die im Zusammenhang mit konstruktiven Problemen eine Rolle spielen, würde zu leicht zu einer Unterschätzung der technischen Forschung führen. Der interessante Einfluß der Silicone auf technische Entwicklungen erfordert eine gesonderte Darstellung! Aber auch bei den Siliconen *beginnen* die Werkstofffragen mit den Erfahrungen über die Verbindungsweise der Atome. Aus diesem Grund wird im folgenden zuerst noch einmal auf den Vergleich von molekülbildenden Verbindungen mit Krystallverbindungen Bezug genommen (vgl. Abschnitt 3, S. 10). Dieser Vergleich ist wiederholt der Gegenstand besonderer Diskussionen gewesen.

Zu den allgemeinen Grundlagen der Chemie der Silicon-Werkstoffe.

Da sich aus den Strukturuntersuchungen an niedermolekularen Methyl-poly-siliconen ein widerspruchsloses Bild vom Bau der Silicone ergeben hat, kann in polymer-homologen Reihen auf den Bau der hochmolekularen, nicht mehr trennbaren Silicone geschlossen werden. Den wichtigsten Beitrag liefern dabei die *Bildungsreaktionen* der Silicone. Das bereits in Abschnitt 3 dargestellte Schema (S. 8) zeigte, wie sich die cyclischen, linearen, verzweigten Silicone aller Polymerisationsgrade von den Organo-silicium-halogeniden *formal* ableiten lassen, und der im selben Abschnitt anschließend beschriebene Versuch von E. G. ROCHOW und W. F. GILLIAM (*81*) (S. 9) zeigte, daß der formalen Ableitung *reale* Möglichkeiten zur Herstellung mehr bzw. weniger vernetzter Silicone entsprechen. Praktisch werden viele Silicon-Werkstoffe mit gewünschten Eigenschaften dadurch erzielt, daß ihre Bildungsreaktionen unter Beachtung des allgemeinen Aufbauschemas (S. 8) entsprechend gesteuert, d. h. die Baugruppen M, D, T in berechneten Verhältnissen in die Systeme eingeführt werden:

Silicon-Öle enthalten cyclische, lineare und verzweigte niedermolekulare Methyl-poly-silicone in wechselnden Mengenverhältnissen. Besonders wertvoll sind Siliconöle mit vornehmlich linearen Methyl-poly-

siliconen, wenn z. B. Interesse für kleine Temperaturkoeffizienten ihrer Viscosität besteht.

Gummiartige Silicon-Massen mit kautschukähnlichen Eigenschaften bilden sich, wenn durch Ausschluß von verzweigenden Baugruppen die Bildung möglichst hochmolekularer linearer Poly-silicone begünstigt wird.

Silicon-Harze enthalten 3-dimensional vernetzte Poly-silicone. Die Aushärtung primär plastischer Massen beruht auf der nachträglichen Reaktion restlicher kondensationsfähiger OH-Gruppen.

Beschleunigung der Kondensation kann durch Zusätze wasserentziehender Stoffe (unter anderem Äthyl-borat) bewirkt werden.

Einflüsse auf den Polymerisationsgrad üben nicht nur die Zusammensetzung der Ausgangsprodukte, d. h. ihr Gehalt an M, D, T und Q *vor* der Hydrolyse, sondern auch die Bedingungen *während der Hydrolyse* der Organo-silicium-halogenide aus, z. B. der p_H-Wert des Mediums, in dem die Hydrolyse stattfindet.

Die meisten Spezialerfahrungen über die Herstellung von Silicon-Werkstoffen sind in der Patentliteratur niedergelegt.

Es ist anregend, im Anschluß an den Überblick über die Entstehung der Poly-silicone auf Grund der Reaktionsfolge

$$\text{Organo-silicium-chlorid} \xrightarrow{\text{Hydrolyse}} \text{Silanol} \xrightarrow{\text{Kondensation}} \text{Poly-silicon}$$

die Systematik zu betrachten, die E. BRANDENBERGER für die Einteilung aller Werkstoffe und damit auch für die Silicon-Werkstoffe benutzt. Ausgangspunkt dieser Systematik bilden die *stereochemischen* Verhältnisse. Sie ergeben eine durchlaufende Unterscheidung der Werkstoffe mit

1-dimensionalen,
2-dimensionalen,
3-dimensionalen

Atomverbänden. Dabei ist zu beachten, daß zwar von Molekülen (im Text „Molekülverbindungen") gesprochen wird, wenn Stoffe in Lösungen oder Dämpfen bis zu frei gegeneinander beweglichen Molekülen aufgeteilt sind, daß aber im Sinne von P. NIGGLI (*10*), (*73*) immer dann von Krystallverbindungen gesprochen wird, wenn die Stoffe im Hinblick auf die *Periodizität im Aufbau ihrer Atomverbände* zweckmäßig mit Begriffen der Krystallstrukturlehre beschrieben werden. Letzteres gilt natürlich für viele anorganische und organische Werkstoffe, die überhaupt nur im krystallisierten Zustand bestehen, bleibt aber nicht auf diese Fälle beschränkt.

In der stereochemischen Systematik erscheinen die linearen Methyl-poly-silicone mit ihrer Si—O—Si-Kette (a) als das bisher einzige Beispiel anorganischer Verbindungen mit in sich neutralen, wirklich 1-dimensionalen und gleichzeitig unbegrenzt lang denkbaren Atomverbänden.

Die hervortretenden Beispiele für Werkstoffe mit 1-dimensionalen Atomverbänden lieferten bisher nur die hochmolekularen kettenförmig gebauten Kohlenwasserstoff-Verbindungen, etwa vom Typus der Paraffine oder der Cellulose usf. Die Silicon-Harze (b) erscheinen dann zwangsläufig in der Gruppe der Werkstoffe mit 3-dimensionalen Atomverbänden, etwa vomTypus der Poly-vinyl-harze usf.

Zu a): Die linearen Methyl-poly-silicone bieten eine gute Gelegenheit, zu zeigen, daß die Beschreibung dieser Verbindungen unter chemisch-präparativen Gesichtspunkten einerseits, unter stereochemischen bzw. krystallchemischen Gesichtspunkten andererseits etwas Verschiedenes ist, daß jedoch keine Widersprüche entstehen, wenn man sich nur den verschiedenen Ursprung beider Arten der Stoffbeschreibung vor Augen hält.

Für die stereochemische bzw. krystallchemische Beschreibung ist bezeichnend, daß sie von der Periodizität im Aufbau der *fertig gebildeten* Atomverbände ausgeht. P. NIGGLI formuliert (*73*) (1945): „Die Kettenbildung an sich bedeutet Bildung 1-dimensionaler krystalliner Konfigurationen, das gesonderte Verhalten der Kettenenden lediglich ein Randphänomen (!), wie es an jedem krystallinen Gebilde endlicher Größe auftreten muß, da das krystalline Bauprinzip dem Unendlichen verpflichtet ist." Zwischen den niedermolekularen (flüchtigen) und den hochmolekularen (nichtflüchtigen) linearen Methyl-poly-siliconen dürfte demnach kein grundsätzlicher Unterschied gemacht werden, „weil manche molekularen Konfigurationen zu krystallinen überleiten, ohne daß am Charakter der Bindung sich irgend etwas ändert".

Für die chemisch-präparative Beschreibung ist bezeichnend, daß sie von der *Entstehung* der Methyl-poly-silicone bei der Hydrolyse der Methyl-silicium-halogenide ausgeht. Hier sind die Funktionen der kettenabschließenden Endgruppen kein „Randphänomen"! Die Molekülbildung ist entscheidend für die makroskopischen Eigenschaften und damit für die Handhabung der Verbindungen. Ohne die experimentelle Untersuchung des genetischen Zusammenhangs zwischen den molekularen Organo-silicium-halogeniden und den nieder- bzw. hochmolekularen Siliconen ist die Entwicklung der Chemie der Silicone nicht denkbar. Deshalb war es sinnvoll, die silico-organischen Silicone zusammenfassend als molekulare Silicone zu bezeichnen und von den Siliconen F. WÖHLERs (*121*), die sich experimentell vom krystallisierten Calciumsilicid als echte Krystallverbindungen ableiten, zu unterscheiden (vgl. Abschnitt 3, S. 6).

Zu b): Daß Silicium-Harze 3-dimensional vernetzte Atomverbände enthalten, wissen wir aus der Entstehung dieser Stoffe. Diese Art der Vernetzung kann nicht durch eine (etwa röntgenographische) Krystallstrukturbestimmung bewiesen werden, weil sie statistisch über die feste

Phase verteilt ist. Trotzdem liegt es im Zuge der stereochemischen Betrachtung nahe, wie E. BRANDENBERGER zu sagen, daß hier stetige Übergänge zu einem echten Krystallverband möglich sind, wenn sich die Zahl der vernetzenden Atomgruppen stetig vermehrt. Diese Beschreibung eines Silicon-Harzes geht dann beinahe vollständig in die im Abschnitt 3, S. 10, wörtlich zitierte Beschreibung von E. G. ROCHOW über, der ein Silicon-Harz als ein organisch abgewandeltes Siliciumdioxyd auffaßte. Auch E. BRANDENBERGER weist den Silicon-Harzen in seiner stereochemischen Systematik eine „Mittelstellung zwischen den organischen Kunststoffen und den anorganischen Gläsern" zu. Besonders bemerkenswert ist seine Feststellung, daß die Struktur dieser 3-dimensionalen Atomverbände, die noch keine idealen Krystallgitter sind, im allgemeinen nicht an den *fertig gebildeten* Stoffen, sondern durch die *chemischen Reaktionen* erkannt wird, die zu ihnen führen. Damit wird auch von einem Experten der krystallchemischen Stoffbeschreibung die Notwendigkeit der chemisch-präparativen Stoffbearbeitung hervorgehoben.

Es darf festgestellt werden, daß der in diesem Abschnitt durchgeführte Vergleich von molekülbildenden Stoffen mit Krystallverbindungen nicht formalen Zwecken dienen soll. Es sollte damit nicht zu Fragen der Nomenklatur oder der Systematik Stellung genommen werden. Es sollte mit konkreten Beispielen gezeigt werden, daß auch die vielbesprochenen Silicon-Werkstoffe zur Würdigung ihrer Eigenart eine *gleichmäßige Berücksichtigung ihrer genetischen und stereochemischen Grundlagen erfordern.*

Zur Viscosität der Silicon-Öle.

Unter den vielen physikalischen Eigenschaften die an Siliconen untersucht worden sind, hat der verhältnismäßig kleine Temperaturkoeffizient der Viscosität bei Siliconölen besonderes Aufsehen erregt. Zur Kennzeichnung handelsüblicher Siliconöle wird der Viscosität-Temperatur-Coeffizient

$$\mathrm{VTC} = \frac{\eta_{37,8} - \eta_{100}}{\eta_{37,8}}$$

(η = kinematische Viscosität bei 37,8 bzw. 100°) benutzt (*102*). Bei vergleichbaren Mineralölen beträgt er 0,8—0,9, bei gewissen Siliconölen erreicht er mit zunehmender Viscosität (η) den angenähert konstanten Wert 0,6 (Abb. 5). Zur Aufklärung dieser Eigenschaft sind die Viscosität, der Temperaturkoeffizient und die scheinbare Aktivierungsenergie der Viscosität in den polymer-homologen Reihen der reinen niedermolekularen linearen und cyclischen Methyl-poly-silicone gemessen worden (*75*), (*120*). Kleine VTC-Werte sind typisch für die *linearen* Verbindungen. Da Viscosität und Dampfdruck quantitativ faßbar

vom Typus sowie vom Polymerisationsgrad der reinen Methyl-poly-silicone abhängen, entstand die Notwendigkeit, in den bei der Herstellung anfallenden *Gemischen* von Methyl-poly-siliconen eine mittlere und reproduzierbare Molekülgröße, d. h. Moleküle nach Maß [tailor made (*83*)] zu erzeugen. Dafür stehen die Reaktionen für die Äquilibrierung zur Verfügung (Abschnitt 9, S. 42). Standardisierte Siliconöle sind möglich. Ihre Zusammensetzung und Bezeichnung werden dem Verwendungszweck angepaßt. LT-Öle [low temperature (*102*),] die bis zu möglichst tiefen Temperaturen flüssig bleiben sollen, enthalten Anteile unregelmäßig verzweigter Moleküle zur Verminderung des Ordnungsvermögens. NV-Ölen [nonvolatile (*102*)], die möglichst geringe Dampfdrucke haben sollen, werden durch Destillation die flüchtigsten niedermolekularen Verbindungen entzogen.

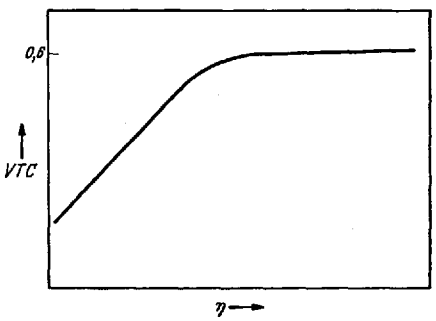


Abb. 5. Abhängigkeit des Temperaturkoeffizienten der Viscosität (VTC) von der Viscosität (η) bei Siliconölen (nach SODER).

Qualitative Erklärungen für die kleinen VTC-Werte der linearen Methyl-poly-silicone können von dem Strukturbild in Abb. 4, S. 36, ausgehen. Mit seiner Hilfe läßt sich die angenäherte Konstanz der Viscosität bei wechselnder Temperatur als Folge von zwei Vorgängen auffassen, die sich kompensieren (*24*):

1. Steigende Temperatur bewirkt Trennung der Moleküle, Erhöhung ihrer Beweglichkeit, damit *Abnahme* der Viscosität der flüssigen Phase.

2. Steigende Temperatur bewirkt Streckung der Molekülspiralen, Steigerung der Möglichkeit zur gegenseitigen Durchdringung, damit Verminderung der Beweglichkeit der einzelnen Moleküle und schließlich *Zunahme* der Viscosität der flüssigen Phase.

Diese einfache Modellvorstellung stellt noch keine abschließende Erklärung dar. Von Einzelheiten abgesehen gehören Methyl-poly-silicone zu den makromolekularen Verbindungen, deren Moleküle im Sinne von CH. SADRON (*92*) nicht mehr als starre Massenteilchen, sondern als Atomketten mit innerer Beweglichkeit behandelt werden müssen.

Zur Oxydierbarkeit der Silicone.

Werden äquilibrierte Methyl-silicon-öle von Luft oder Sauerstoff bei höheren Temperaturen durchspült, dann können stoffliche Veränderungen an den Änderungen der Viscosität, am Auftreten von flüchtigen Oxydationsproduktionen in den Abgasen und (mit einer geringeren Empfindlichkeit) im Infrarot-Absorptionsspektrum erkannt werden.

Reihenversuche mit handelsüblichen Ölen (*5*) ergaben, daß im allgemeinen mit einer Beständigkeit bis etwa $+175°$ gerechnet werden darf, und daß bei etwa $+200°$ schwache Oxydation beginnt. Unter den flüchtigen Oxydationsprodukten erschien Formaldehyd. Da gleichzeitig eine Erhöhung der Viscosität, im Infrarot-Absorptionsspektrum aber kein Anzeichen für Si—Si-Bindungen oder für vermehrte Anteile cyclischer Methyl-poly-silicone beobachtet wurde, lag es nahe, Oxydation endständiger CH_3-Gruppen an linearen Molekülen und eine Molekülvergrößerung durch neue (Si—O—Si)-Bindungen zwischen den angegriffenen Molekülenden anzunehmen. Derartige Oxydation kann bis zur Gelatinierung oder Harzbildung der ursprünglichen Flüssigkeiten führen.

Sorgfältig auskondensierte Methyl-poly-silicon-Harze blieben bei vollständigem Ausschluß von Sauerstoff bei 500° lange Zeit farblos. In Sauerstoffatmosphäre wurde bei 200° in 1 Jahr keine Änderung der optischen Eigenschaften beobachtet (*83*).

Silicone, die an Stelle der CH_3-Gruppen ungesättigte Gruppen, z. B. Vinyl: $CH_2=CH-$, enthalten und dementsprechend aus Vinyl-siliciumchloriden $(CH_2=CH)_xSiCl_{4-x}$ hergestellt werden, sind gegen Sauerstoff natürlich sehr viel weniger beständig als die Methyl-poly-silicone (*42*).

11. Silico-organische Stoffsysteme.

Wenn man zur Abkürzung alle anorganischen Stoffsysteme, die mit Hilfe von sauerstoffhaltigen Silicium-Verbindungen (Siliciumdioxyd, Kieselsäure, Silicaten usf.) aufgebaut werden können, als Si—O-Systeme und alle organischen Stoffsysteme als C-Systeme bezeichnet, dann läßt sich für die Chemie der Werkstoffe sagen:

Si—O-Systeme ermöglichen andere Kombinationen makroskopischer Stoffeigenschaften als C-Systeme, z. B. mechanische Festigkeit + Temperaturbeständigkeit (von einigen, allerdings wichtigen Spezialfällen abgesehen), *unter Verzicht auf Geschmeidigkeit.* C-Systeme, im besonderen mit einem Gehalt an hochmolekularen Verbindungen, ermöglichen z. B. mittlere mechanische Festigkeit + Geschmeidigkeit, immer *unter Verzicht auf hohe Temperaturbeständigkeit.*

Versuche, die Vorzüge von Si—O-Systemen mit den Vorzügen von C-Systemen zu vereinigen, können sowohl von der Frage nach den gewünschten *makroskopischen Stoffeigenschaften*, als auch von der Frage nach den möglichen *Atomverbänden* mit (Si—C)-Bindungen, (Si—O—C)-Bindungen und ähnlichen Bindungen ausgehen. Beide Fragestellungen sind naturwissenschaftlich gleichwertig, weil sie letzten Endes zu denselben Lösungen führen müssen. Wenn aber die Versuche von der Frage nach den makroskopischen Stoffeigenschaften ausgehen, dann sind sie zunächst unabhängig von speziellen Strukturvorstellungen;

dann lassen sie von vornherein auch die Möglichkeit zu, beim Aufbau eines Stoffsystems z. B. die anorganische Komponente als disperse Phase in die organische Komponente einzutragen. Es ist deshalb sinnvoll, die Chemie der Silicone nicht nur als ein Spezialgebiet der Chemie silico-organischer *Verbindungen*, sondern ganz allgemein als ein Spezialgebiet der Chemie silico-organischer *Stoffsysteme* aufzufassen. Diese Konzeption entspricht der grundsätzlichen Bedeutung, die eine zusammenfassende Beurteilung der zwei wichtigen Rohstoffquellen, der Silicatkruste der Erde und der Biosphäre, hat. Silico-organische Verbindungen bildet die Natur nicht oder nur selten (*83*). Silico-organische Stoffsysteme kommen vor [Ablagerung von Kieselsäure in Organismen (*29*), (*60*).] Die systematische Erschließung aller Möglichkeiten, die silico-organische Stoffsysteme bieten, ist Aufgabe der chemischen Synthese.

Abb. 6. Siliciumdioxyd-Rauch (grob).

Beispiele, die in das weite Gebiet silico-organischer Stoffsysteme führen, aber immer noch eng mit der speziellen Chemie der Silicone zusammenhängen, sind:

a) Bildung von Silicon-Filmen auf Glas und Silicaten. Bei der Bedampfung von feuchten, d. h. nicht durch Ausheizen vollständig getrockneten Glasoberflächen mit Methyl-silicium-chloriden bilden sich festhaftende Silicon-Filme, die wasserabstoßend wirken. Die wasserabstoßende Wirkung wird aufgehoben bei der Behandlung des Glases mit Reagentien, die (Si—O—Si)-Bindungen angreifen: Flußsäure, Natronlauge. Die Deutung dieser Erscheinungen muß von dem Strukturbild der Methyl-poly-silicone (Abschnitt 8, S. 36) ausgehen; es ist anzunehmen, daß hier wie bei der Spreitung der Methyl-poly-silicone auf Wasser der Molekülverband einseitig verdreht wird und die Methyl-Gruppen der Glasoberfläche abgewandt, die (Si—O)-Gruppen mit den (Si—O)-Bindungen in der Glasoberfläche in Wechselwirkung getreten sind (*83*), (*102*).

b) Siliciumdioxyd als Füllstoff für flüssige und feste Silicone. Auf Grund seiner strukturellen Beziehungen zu der (Si—O—Si)-Kette der

Silicone kann Siliciumdioxyd als spezifischer Füllstoff für Silicone angesehen werden. Neben den üblichen Verfahren eignet sich die Verbrennung silico-organischer Verbindungen zur Herstellung sehr feinteiliger Siliciumdioxyd-Präparate. Dabei entstehen Aerosole mit den typischen, aus Graphit- (*38*) oder Magnesiumoxyd(*4*)-Rauchen bekannten flockenartigen Aggregaten (Abb. 6). Vgl. die Erfahrungen bei der Verbrennungsanalyse, Abschnitt 8, S. 33.

c) Trimethyl-silicium-cellulose (*96*). Siliciumtetrachlorid kann durch Reaktion mit OH-Gruppen Vernetzung (cross linkage) hochmolekularer organischer Verbindungen bewirken. Diese Wirkung gibt sich z. B. schon bei sehr kleinen Zusätzen von Siliciumtetrachlorid zu verdünnten Lösungen unvollständig acetylierter Cellulose durch Erhöhung der Viscosität dieser Lösungen zu erkennen (*61*). Ersatz der Cl-Atome im Siliciumtetrachlorid durch Methyl-Gruppen schränkt die Vernetzungsrichtungen ein. Cellulose nimmt annähernd 2,75 Mol Trimethyl-siliciummonochlorid je Cellulose-Gruppe auf, wenn der dabei frei werdende Chlorwasserstoff durch Pyridin abgefangen wird.

d) Co-polymerisation von Vinyl-poly-siliconen mit Vinyl-Derivaten (*42*). Hydrolyse und Kondensation von Divinyl-silicium-dichlorid führt zu Vinyl-poly-siliconen (Abschnitt 10, S. 49). Bei der Co-Polymerisation dieser, in der organischen Gruppe R ungesättigten Silicone mit monomeren Vinyl-Derivaten entstehen silico-organische Stoffsysteme, in denen die Komponente mit der (Si—O—Si)-Kette durch die Funktionen der (CH_2=CH—)-Gruppe an die Komponente mit der (C—C)-Kette gebunden wird.

12. Rückblick.

In den Abschnitten 1—11 wurde unter dem ausdrücklichen Verzicht auf eine vollständige Aufzählung von Einzelbefunden eine Übersicht über die Entwicklung der Chemie der Silicone gegeben. Es wurde unter anderem Wert darauf gelegt, Beziehungen der speziellen Silicon-Forschung zu angrenzenden Forschungsgebieten zu erwähnen. Wird nun abschließend noch einmal versucht, einige allgemeine Gesichtspunkte hervorzuheben, dann führt dies beispielsweise zu folgenden Feststellungen:

1. Die Bedeutung der Chemie der (silico-organischen) Silicone kommt dann besonders gut zur Geltung, wenn diese Stoffgruppe nicht nur als ein Spezialfall silico-organischer Verbindungen, sondern als Gegenstand eines noch viel weiter geplanten Forschungsgebietes aufgefaßt wird, das sich ganz allgemein mit den verschiedenartigen Möglichkeiten der Kombination der Vorzüge von Si—O-Systemen mit den Vorzügen von C-Systemen befaßt. Die Vorbilder und damit auch die

Rohstoffquellen für die ersteren enthält die Silicatkruste der Erde, für die letzteren die Biosphäre.

2. Seit etwa 1940 hat die spezielle Chemie der Silicone wesentliche Antriebe durch das Bestreben erhalten, diese Stoffe rationell und in solchen Mengen herzustellen, daß gleichzeitig Urteile über ihre Anwendbarkeit und vielseitige experimentelle Untersuchungen zur Aufklärung ihrer Struktur möglich wurden. Man darf deshalb auch hier nicht sagen, „daß die Chemie schon längst aus dem Stadium der Erforschung prinzipieller Zusammenhänge in das der praktischen Anwendungen übergegangen" sei. Eine derartige Auffassung, zu der die technischen Erfolge der Silicon-Forschung verleiten könnten, würde eine falsche Auslegung dieser wörtlich zitierten Formulierung sein, die W. HEISENBERG 1941 in einem anderen Zusammenhang, d. h. bei der Diskussion des Einflusses der neueren atomtheoretischen Ergebnisse auf die chemische Forschung gewählt hat (*37*). Herstellung, Strukturaufklärung und Anwendung silico-organischer Stoffsysteme schließen Untersuchungen über Elementarvorgänge einerseits und Überlegungen über den Stoffhaushalt in der Natur andererseits ein; dadurch werden auch hier immer wieder „prinzipielle" Fragen berührt.

3. Einige der Grundreaktionen, die mit zur neueren Entwicklung der Chemie der Silicone beigetragen haben, sind seit den Anfängen der Chemie silico-organischer Verbindungen bekannt, oder im Rahmen der klassischen Chemie metall-organischer Verbindungen bekanntgeworden (*62*), (*143*), und zwar zugleich für Silicium, Germanium, Zinn.

O. SCHMITZ-DUMONT (*92a*) hat 1941 die Reaktion

$$2\,(C_6H_5)_3SnOH \leftrightarrow (C_6H_5)_3Sn{-}O{-}Sn(C_6H_5)_3 + H_2O$$

untersucht. Im Gegensatz zu der Chemie der Silicone hydrolysiert hier das Kondensationsprodukt leicht unter Rückbildung des Triphenyl-Zinn-Hydroxyds.

E. G. ROCHOW hat 1947 die Reaktion von Methylchlorid mit Silicium auf Germanium übertragen (*84a*), (*141*), (*142*). Er hat dabei Dimethyl-Germaniumdichlorid $(CH_3)_2GeCl_2$ erhalten; dessen Hydrolyse führte jedoch nicht so einfach wie bei der entsprechenden Silicium-Verbindung zu $(CH_3)_2GeO$. Es mußte der Umweg über das Sulfid gegangen werden (*84*):

$$(CH_3)_2GeCl_2 \xrightarrow{H_2S} (CH_3)_2GeS \xrightarrow{H_2O} (CH_3)_2GeO\,.$$

Daß Germanium und Zinn nicht im gleichen Maß wie Silicium zur Bildung von Sauerstoffbrücken befähigt sind, geht schon aus den unterschiedlichen Eigenschaften der Dioxyde hervor. Die Tendenz zur Bildung einer Makromolekülstruktur und damit zur Bildung glasartiger Phasen nimmt in der Reihenfolge SiO_2, GoO_2, SnO_2 ab [E. ZINTL (*127*)].

Eine Erklärung dafür, daß die spezifische Bedeutung dieser Reaktion für die Chemie des Siliciums lange Zeit unbeachtet blieb, kann unter anderem darin gesehen werden, daß Silicium als zu wenig interessantes (reaktionsfähiges) Metall und zu sehr als homologes Element des Kohlenstoffs galt.

13. Nachtrag.

Bezeichnend für die weitere Entwicklung der Chemie der Silicone ist die große Zahl der experimentellen Untersuchungen, deren Ergebnisse nach dem Abschluß dieses Berichtes (Anfang 1949) bekanntgeworden sind. Auch diese neueren Ergebnisse lassen sich in die Systematik einordnen, die dem vorliegenden Bericht zugrunde liegt. Selbstverständlich muß auch im Nachtrag auf Vollständigkeit verzichtet werden. Es können auch hier nur vereinzelte Beispiele für die hervortretendsten Arbeitsrichtungen angeführt werden.

Herstellung organo-substituierter Siliciumhalogenide. (Vgl. Abschnitt 6, S. 16.) Sowohl die Synthese von GRIGNARD als auch die Synthese von ROCHOW wurden weiter verfolgt. Wenn es sich darum handelte, Organo-silicium-halogenide (R_xSiX_{4-x}) mit größeren bzw. verschiedenen R-Gruppen herzustellen, wurde die GRIGNARDsche Synthese benutzt. Hierbei ist die Tendenz zu beobachten, die R-Gruppen speziellen Bedürfnissen anzupassen. Beispiele für isolierte Reaktionsprodukte der GRIGNARDschen Synthese sind:

$R = (CH_2 \cdot C_6H_5)$; $(CH_2 = CH \cdot CH_2)$; $(C_6H_4—C_2H_5$, para); $(C_6H_4—OCH_3)$; $(C_6H_4—OC_2H_5)$; (iso-propyl); (iso-butyl); $(Cl_2C=CHCl)$.

R eingesetzt in $HSiCl_3$ bzw. $SiCl_4$ (*130*), (*131*), (*137*).

Es wird darauf hingewiesen, daß in einigen Fällen die Anwendung der Mg—Br-Verbindungen günstiger als die Anwendung der Mg—Cl-Verbindungen ist (*132*). In einigen Fällen schienen reine Lösungsmittel, wie Äther und Benzol, weniger günstig als deren Gemische zu sein (*131*). Auch die WURTZsche Synthese wurde in Spezialfällen herangezogen (*130*):

$$4\,p,\,C_2H_5—C_6H_4—Cl + SiCl_4 \xrightarrow{Na} (p,\,C_2H_5—C_6H_4)_4\,Si.$$

Über die ROCHOWsche Synthese unterrichten in erster Linie Patentschriften. Dabei beziehen sich die Angaben auf die zugesetzten Katalysatoren (Hauptbeispiel Kupfer) (*134*), (*135*), (*136*), (*138*), (*139*), auf die Apparatur (*133*) und auf die Ausbeuten (*139*). Abschließende Erkenntnisse über den Reaktionsmechanismus liegen nicht vor. Dagegen haben sich die Erfahrungen über die zweckmäßigste Form, in der Kupfer dem Silicium zugesetzt wird, vermehrt. Für die großtechnische Produktion wird bessere Reproduzierbarkeit der Ausbeute bzw. des Mischungsverhältnisses der Methylsiliciumchloride im Rohprodukt angestrebt.

Zwei Versuche in einer technischen Apparatur ergaben folgende Zusammensetzung der Rohprodukte in Prozenten (*133*):

	Unter 66° C siedend	CH_3SiCl_3	$(CH_3)_2SiCl_2$	Rückstand
a)	13,3	11,8	66,6	9,3
b)	12,7	15,3	59,3	12,6

In diesen beiden Versuchen wurde das eingesetzte Silicium mit 59,4% (a) bzw. mit 39,7% (b) zu $(CH_3)_2SiCl_2$ umgesetzt. Der Cu-Katalysator bildete hier lockere Körner, die oberflächlich mit Kupferoxyd überzogen waren. Die technische Apparatur bestand in einem senkrecht stehenden Reaktionsrohr, in dem das Silicium während der Reaktion mit Methylchlorid durch eine rotierende Schneckenschraube in Bewegung gehalten wurde.

Die Schwierigkeit bei der Aufarbeitung der Reaktionsprodukte, das azeotrope Gemisch von $SiCl_4$ und $(CH_3)_3SiCl$ durch fraktionierte Destillation zu trennen, wurde durch Fluorierung des $(CH_3)_3SiCl$ mit ZnF_2 behoben. $(CH_3)_3SiF$ konnte von dem unveränderten $SiCl_4$ durch fraktionierte Destillation getrennt werden (*140*). $(CH_3)HSiCl_2$ wurde mit Antimonfluorid ohne Katalysator zu $(CH_3)HSiClF$ und $(CH_3)HSiF_2$ fluoriert (*147*).

Hydrolyse und Kondensation. (Vgl. Abschnitt *7*, S. 28). Ähnlich zahlreich wie die Versuche zur Herstellung neuer Organo-siliciumhalogenide sind die Versuche über Hydrolyse und nachfolgende Kondensation der Organo-silicium-halogenide. Die Mehrzahl dieser Versuche hatte das Ziel einer Verbesserung der makroskopischen Eigenschaften der Kondensationsprodukte (Werkstoffeigenschaften). Sehr viel kleiner ist die Zahl der Untersuchungen, die sich mit den Elementarvorgängen bei der Hydrolyse befassen. Zu den letzteren gehört der Vergleich der Hydrolyse von $(C_6H_5)_3SiF$ und $(C_6H_5)_3CF$ (*144*). Die Hydrolyse der C-Verbindung ist unabhängig vom p_H-Wert des Mediums, die Hydrolyse der Si-Verbindung dagegen sehr stark abhängig vom p_H-Wert des Mediums. Diese Beobachtungen regen zu einer Diskussion der verschiedenen Bindungsarten in diesen Verbindungen an. In naher Beziehung zu diesen Versuchen steht der Vergleich von Derivaten der Methyl-silicium-halogenide, in denen (mit Hilfe der GRIGNARDschen Synthese) die Cl-Gruppen durch Carbonsäuren ersetzt sind, mit den entsprechenden Si-freien Carbonsäuren. Beispiel: $(CH_3)_3SiCH_2CO_2H$ (*145*). Es wurde die Säurestärke dieser Verbindungen gemessen.

Silicone als Werkstoffe. (Vgl. Abschnitt 10, S. 49.) Eine Erweiterung der Beschreibung makroskopischer Eigenschaften von Polymethyl-siliconen bedeuten Messungen über die Fortpflanzungsgeschwindigkeit von Ultra-Schallwellen in Siliconölen (*146*).

Literatur.

1. Alfrey, T., F. J. Honn and H. Mark: Preparation, Purification and Polymerisation of Diethyl-Silicon-Dichloride. J. Polymer Sci. **1**, 102 (1946).
2. Anderson, H. H.: Phenyl silicon isothiocyanates. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1220 (1948).
3. Andrianov, K. A.: Organische Silicium-Verbindungen. V. Synthese von Alkyl- und Arylhalogenmonosilanen. J. Gen. Chem. (U.S.S.R.) **16**, 487 (1946). Organische Siliciumverbindungen. VI. Der Mechanismus der Hydrolyse und der Wasseranlagerung an Dialkyläthoxymonosilane. J. Gen. Chem. (U.S.S.R.) **16**, 633 (1946). Chem. Abstr. **1947**, 1206 b.
4. Ardenne, M. v.: Elektronen-Übermikroskopie. Berlin: Springer 1940.
5. Atkins, D. C., C. M. Murphy and C. E. Saunders: Polymethylsiloxane. Ind. Engng. Chem. **39**, 1395 (1947).
6. Balis, E. W., W. F. Gilliam, E. M. Hadsell, H. A. Liebhafsky and E. H. Winslow: Density Data for two Methylchlorosilanes. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1654 (1948).
7. Barry, A. J., L. de Pree, J. W. Gilkey and D. E. Hook: The reaction of olefins and chlorohydrosilanes. J. Amer. chem. Soc. **69**, 2916 (1947).
8. Booth, H. S., and P. Herbert: Äthyltrichlorsilan und seine Fluorsubstitutionsprodukte. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2650 (1946).
9. Brandenberger, E.: Grundlagen der Werkstoffchemie. Zürich: Rascher 1947.
10. — Die Klassifikation der chemischen Verbindungen auf stereochemischer Grundlage. Chimia **2**, 129, 149 (1948).
11. Burkhard, C. A., E. G. Rochow, H. S. Booth u. J. Hartt: Der gegenwärtige Stand der organischen Siliciumchemie. Chem. Reviews **41**, 97 (1947).
12. Cogan, H. D., and C. A. Setterstrom: Ethyl Silicates. Ind. Engng. Chem. **39**, 1364 (1947).
13. Crane, E. J.: Chem. Engng. News **24**, 1233 (1946).
14. DiGiorgio, P. A., L. H. Sommer and F. C. Whitmore: Diethyl-silanol. J. Amer. chem. Soc. **68**, 344 (1946).
5. — — — Complete chlorination of methyltrichlorsilane. J. Amer. chem. Soc. **70**, 3513 (1948).
16. Dilthey, W., u. F. Eduardoff: Über die Darstellung von Phenylsilicium-Verbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 1138 (1904).
17. Doede, C. M., and A. Panagrossi: Polysiloxane Elastomers. Ind. Engng. Chem. **39**, 1372 (1947).
18. Emeléus, H. J.: Einige Mitteilungen über Borwasserstoff und die Silicon-Chemie. Angew. Chem. A **59**, 21 (1947).
19. —, and D. S. Payne: Some organic derivatives of Hexachlorodisiloxane. J. chem. Soc. (London) **1947**, 1590.
19a. —, and S. R. Robinson: Alkyl, Aryl and Alkoxy-Derivatives of Silicon Tetrachloride and Silicochloroform. J. chem. Soc. (London) **1947**, 1592.
20. Forbes, G. S., and H. H. Anderson: Silicon oxy-isocyanates and oxy isothiocyanates. J. Amer. chem. Soc. **69**, 3048 (1947).
21. — — Methyl Silicon isocyanates and n-Butyl Silicon Triisocyanates. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1222 (1948).
22. — — Phenyl and ethoxy Silicon Isocyanates. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1043 (1948).
23. Flory: J. chem. Physics. **12**, 425 (1944).
24. Fox, H. W., P. W. Taylor and W. A. Zisman: Polyorganosiloxanes, surface active proporties. Ind. and chem. Engng. **39**, 1401 (1947).

25. FRIEDEL, C., u. J. M. CRAFTS: Über einige neue organische Verbindungen des Siliciums und das Atomgewicht dieses Elementes. Liebigs Ann. Chem. **127**, 31 (1863).
26. — — Über einige neue organische Verbindungen des Siliciums und das Atomgewicht dieses Elementes. Liebigs Ann. Chem. **127**, 28 (1863).
27. — Über die Einwirkung des Broms auf den Isopropylalkohol und auf das Isopropyljodid. Liebigs Ann. Chem. **136**, 203 (1865).
28. FREVEL, L. K., and M. J. HUNTER: J. Amer. chem. Soc. **67**, 2275 (1945).
29. FREY-WISSLING: Stoff-Ablagerung in Pflanzen. Berlin: Springer 1935.
30. FUOSS, R. M.: J. Amer. chem. Soc. **65**, 2406 (1943).
31. GILLIAM, W. F., H. A. LIEBHAFSKY and A. F. WINSLOW: Dimethyl Silicon Dichloride and Methyl Silicon Trichloride. J. Amer. chem. Soc. **63**, 801 (1941).
32. GILMAN, H., and S. P. MASSIE: J. Amer. chem. Soc. **68**, 1128 (1946).
33. —, M. R. CLARK, R. E. WILEY and H. DIEHL: Determination of Silicon in relatively nonvolatile organo-silicon compounds. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2728 (1946).
34. Handbook of Chemistry and Physics. 28th Edition. 1944. S. 2507.
35. MCHARD, J. A., P. C. SERVAIS and H. A. CLARK: Determination of Silicon in Organosilicon Compounds. Analyt. Chemistry **20**, 325 (1948).
36. HAUL, R.: Chemie der Silikone. Angew. Chem. A **60**, 225 (1948).
37. HEISENBERG W.: Die Einheit des naturwissenschaftlichen Weltbildes. (Wandlungen in den Grundlagen der Naturwissenschaft.) Leipzig: S. Hirzel 1944.
38. HOFMANN, U., A. RAGOSS u. F. SINKEL: Die Struktur der Kolloide des feinkristallinen Kohlenstoffs. Kolloid-Z. **96**, 231 (1941).
39. HOLZAPFEL, L.: Silicone. Organische Kieselsäureverbindungen. Kautschuk und Gummi **1**, 89 (1948).
40. HURD, D. T. and E. G. ROCHOW: On the mechanism of the reaction between Methylchloride and Silicon-Copper. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1057 (1945).
41. — Die Dampfphasenalkylierung und -hydrierung von Chlorsilanen. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1545 (1945).
42. —, and G. F. ROEDEL: Vinyl and Alkyl Silicone polymers and Copolymers. Ind. and chem. Engng. **40**, 2078 (1948).
43. — Ch. B.: The specific volume and viscosity in relation to temperature and constitution. Studies on Siloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 364 (1946).
44. HUNTER, M. J., J. F. HYDE, E. L. WARRICK and H. J. FLETCHER: The cyclic Dimethyl Siloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 667 (1946).
45. —, E. L. WARRICK and C. C. CURRIE: The open chain Dimethylsiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2284 (1946).
46. HYDE, J. F., L. K. FREVEL, H. S. NUTTING, P. S. PETRIC and M. A. PURCELL: Cyclo-diphenylsiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **69**, 488 (1947).
47. —, and R. C. DELONG: Kondensationsprodukte von Organosilandiolen. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1194 (1941).
48. KARRER, P.: Lehrbuch der organischen Chemie. Leipzig: Georg Thieme 1943.
49. KAUTSKY, H.: Permutoide. Kolloid-Z. **102**, 1 (1943).
50. KIPPING, F. S.: Proc. chem. Soc. **20**, 15 (1904).
51. — Proc. chem. Soc. **21**, 65 (1905).
52. — The Nomenclature of organic silicon compounds. J. chem. Soc. (London) **101**, 2106 (1912).
53. — Proc. chem. Soc. **28**, 243 (1912).
54. —, and L. L. LLOYD: Proc. chem. Soc. **15**, 174 (1899).
55. — — Organic Derivatives of Silicon. Triphenylsilicol and Alkyloxysilicon Chlorides. J. chem. Soc. [London] **79**, 449 (1901).

56. KITTEL, H.: Die Entwicklung der silicium-organischen Chemie. Farben, Lacke, Anstrichstoffe **4**, 50 (1948).
57. KOHLSCHÜTTER, H. W., W. SCHEELE u. G. JAEKEL: Unveröffentlichte Versuche.
58. —, u. H. RÖSSLER: Unveröffentlichte Versuche.
59. —, u. J. SCHAAFHAUSEN: Unveröffentlichte Versuche.
60. —, u. H. MATTNER: Abscheidung von Kieselsäure in Cellulosefasern (im Druck).
61. —, u. R. RUDOLPH: Unveröffentlichte Versuche.
62. KRAUSE, E., u. A. v. GROSSE: Die Chemie der metallorganischen Verbindungen. Berlin: Bornträger 1937.
63. KRAUT, H.: Über eine einfache Darstellung der Monokieselsäure und über den Verlauf ihrer Kondensation. Ber. dtsch. chem. Ges. **64**, 1709 (1931).
64. LADENBURG, A.: Über die Reaktionsprodukte des Kieselsäureäthers und deren Derivate. Liebigs Ann. Chem. **164**, 300 (1872).
65. LANDOLT-BÖRNSTEIN: Physikalisch-chemische Tabellen, 3. Erg.-Bd., S. 2749. Berlin: Springer 1936.
66. LEWIS, R. N., and A. E. NEWKIRK: A Method of calculating the boiling points of Silicon compounds. J. Amer. chem. Soc. **69**, 701 (1947).
67. — Methylphenylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1115 (1948).
68. MEALS, R. N.: Alkylierung von Triäthylsilan. J. Amer. chem. Soc. **68**, 1880 (1946).
69. MILLER, H. C., u. R. S. SCHREIBER: US-Patent 2379821.
70. MINER, C. S., L. A. BRYAN, R. P. HOLYSZ and G. W. PEDLOW: Tert.-Alkoxy-amino-silanes. Ind. Engng. Chem. **39**, 1368 (1947).
71. MOISSAN, H.: Traité de Chimie minérale. I, S. 34. 1904.
72. NEWKIRK, A. E.: Die Darstellung von Methylfluorosilanen. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2736 (1946).
73. NIGGLI, P.: Grundlagen der Stereochemie. Basel: Birkhäuser 1945.
74. PATNODE, W., and F. C. SCHMIDT: J. Amer. chem. Soc. **67**, 2272 (1945).
75. —, and D. F. WILCOCK: Methylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 358 (1946).
76. — US-Patent 2380997.
77. PAULING, L.: The nature of the chemical bond and the structure of molecules and crystals. Cornell University Press. Ithaca, N. Y. 1945.
78. PIETRUSZA, E. W., L. H. SOMMER and F. C. WHITMORE: A new synthesis of organosilicon compounds. J. Amer. chem. Soc. **70**, 484 (1948).
79. POLIS, A.: Über aromatische Siliciumverbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **18**, 1540 (1885).
80. PRAY, B. O., L. H. SOMMER, G. M. GOLDBERG, G. T. KERR, P. A. DIGIORGIO and F. C. WHITMORE: Trimethylhalosilane preparations. J. Amer. chem. Soc. **70**, 433 (1948).
81. ROCHOW, E. G., and F. W. GILLIAM: Polymeric Methyl-silicon oxydes. J. Amer. chem. Soc. **63**, 798 (1940).
82. — The direct Synthesis of Organo-silicon Compounds. J. Amer. chem. Soc. **67**, 963 (1945).
83. — An Intruduction to the Chemistry of the Silicones. New York: John Wiley & Sons 1946. London: Chapman & Hall 1947.
84. — Dimethylgermaniumsulfide and Dimethylgermaniumoxyde. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1801 (1948).
84a. — Organic compounds of Germanium. The direct synthesis from elementary Germanium. J. Amer. chem. Soc. **69**, 1729 (1947).
85. —, u. W. I. PATNODE: U.S.-Patent 2380996.
86. — U.S.-Patent 2380995.

87. ROTH, W. L.: The possibility of free rotation in the silicones. J. Amer. chem. Soc. **69**, 474 (1947).
88. SAUER, R. O.: Derivate der Methylchlorsilane. I. Mitt. Trimethylsilanol und seine einfachen Äther. J. Amer. chem. Soc. **66**, 1707 (1944).
89. —, and W. I. PATNODE: Derivate der Methylchlorsilane. II. Mitt. 2-Chloräthoxysilane. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1548 (1945).
90. — J. Amer. chem. Soc. **68**, 954 (1946).
91. —, and D. J. MEAD: Dipole moments of linear and cyclic Polymethylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 1794 (1946).
91a. —, and E. M. HADSELL: Azeotropes of Trimethylchlorosilane and Silicon Tetrachloride. J. Amer. chem. Soc. **70**, 4258 (1948).
91b. — W. J. SCHEIBER and E. M. HADSELL: Hydrocarbon By-products from the Methylchloride Silicon reaction. J. Amer. chem. Soc. **70**, 4254 (1948).
92. SADRON, CH.: Viscosité des solutions macromoléculaires étendues. International rheological congress Holland 1948.
92a. SCHMITZ-DUMONT, O.: Über das Triphenylzinnoxyd (Bis-triphenylzinn-äther). Z. anorg. Chem. **248**, 289 (1941).
93. SCHUMB, W. C., J. ACKERMANN and CH. M. SAFFER: Studies in Organosilicon Synthesis. I. The Wurtz-Reaction with Siliconchlorides. J. Amer. chem. Soc. **60**, 2486 (1938).
94. —, and E. L. GAMBLE: Inorganic Synthesis, S. 42. New York: H. S. BOOTH, MacGraw Hill-Book Comp. 1939.
95. —, and A. J. STEVENS: Partial Hydrolysis of Silicon tetrachlorides. J. Amer. chem. Soc. **69**, 726 (1947).
96. SCHUYTEN, H. A., J. W. WEAVER, J. D. DAVID and J. F. JURGENS: Trimethylsilylcellulose. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1919 (1948).
97. SCHWARZ, R.: Die Chemie der Silicone. Naturwiss. **34**, 285 (1947).
98. —, u. CHR. DANDERS: Einige neue Halogenide des Siliciums. VI. Formel und Konstitution eines Silico-sebazinsäurederivates. Z. anorg. Chem. **253**, 273 (1947).
99. SCOTT, D. W.: Thermal rearrangement of branched-chain Methylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 356 (1946).
100. — Equilibria between linear and cyclic Polymers in Methylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2294 (1946).
101. SHTETTER, I. I.: Russisches Patent 44934.
102. SODER, R.: Die Silicone, Silicium-organische Kunststoffe. Zürich: Novelectric A. G.
103. SOMMER, L. H., E. W. PIETRUSZA and F. C. WHITMORE: Properties of the Silicon-hydroxyl Bond in Trialkylsilanols. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2282 (1946).
104. — — — Peroxyde-catalysed addition of trichlorosilane to 1-octane. J. Amer. chem. Soc. **69**, 188 (1947).
105. — G. T. KERR and F. C. WHITMORE: Reactions of Trimethylsilylsulfate. J. Amer. chem. Soc. **70**, 445 (1948).
106. SPEIER, J. L. and B. F. DAUBERT: Chlorides and other Derivatives of Tetramethylsilane. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1400 (1948).
107. — — and R. R. MCGREGOR: Preparations and Properties of Trimethylsilylmethanol. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1117 (1948).
108. STAUDINGER, H.: Die hochmolekularen organischen Verbindungen. Berlin: Springer 1932.
109. — Die Chemie der hochmolekularen organischen Stoffe im Sinne der KEKULÉschen Strukturlehre. Z. ang. Chem. **42**, 67 (1929).

110. Stock, A.: Die Nomenklatur der Silicium- und Bor-Verbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **49**, 108 (1916).
111. — Zur Nomenklatur der Siliciumverbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 169 (1917).
112. — Zur Nomenklatur der Siliciumverbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 1769 (1917).
113. — Siliciumchemie und Kohlenstoffchemie. Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 170 (1917).
114. — C. Somieski u. R. Wintgen: Siliciumwasserstoffe. IV. Oxomonosilan (Prosiloxan). Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 1764 (1917).
115. — — Siliciumwasserstoffe. VI. Chlorierung und Methylierung des Monosilans. Ber. dtsch. chem. Ges. **52**, 723 (1919).
116. — — Siliciumwasserstoffe. XI. Die Einwirkung von Sauerstoff auf SiH_4 und Si_2H_6. Ber. dtsch. chem. Ges. **55**, 3961 (1922).
117. —, u. P. Stiebeler: Siliciumwasserstoffe. XV. Trisilan und Chloroform. Ber. dtsch. chem. Ges. **56**, 1087 (1923).
118. Taylor, L. T., L. H. Sommer and F. C. Whitmore: t-Butylsilicon compounds. J. Amer. chem. Soc. **70**, 2876 (1948).
119. Whitmore, F. C., L. H. Sommer, P. A. diGiorgio, W. A. Strong, R. E. van Strien, D. L. Bailey, H. K. Hall, E. W. Pietrusza and G. T. Kerr: Organosiliciumverbindungen. I. Mitt. Synthese und Eigenschaften von n-Alkyltrimethyl- und n-Alkyltriäthylsilanen. J. Amer. chem. Soc. **68**, 475 (1946).
120. Wilcock, D. F.: Vapor Pressure Viscosity Relations in Methylpolysiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **68**, 691 (1946).
121. Wöhler, F.: Über Verbindungen des Siliciums mit Sauerstoff und Wasserstoff. Liebigs Ann. Chem. **128**, 257 (1863).
122. Wright, N., and M. J. Hunter: Organosilicon Polymers. III. Infrared Spectra of the Methyl-poly-siloxanes. J. Amer. chem. Soc. **69**, 803 (1947).
123. Wyberg, E., u. O. Stecher: Zur Frage der Existenz flüchtiger Aluminiumwasserstoffe. Chemie **52**, 372 (1939).
124. Zimmermann, W.: Die automatische Mikroelementaranalyse. Naturf. und Medizin in Deutschland 1939—1946. Organische Chemie II., Kapitel XIV.
125. Zintl, E., u. K. Loosen: Siliciumdisulfid ein anorganischer Faserstoff mit Kettenmolekülen. Z. physik. Chem. Abt. A **174**, 301 (1935).
126. Zemany, P. D., and F. P. Price: Kinetics and Thermodynamic Properties of the Disproportionation of Methylchlorosilanes. J. Amer. chem. Soc. **70**, 4222 (1948).
127. Zintl, E., u. W. Morawietz: Orthosalze von Sauerstoffsäuren. Z. anorg. Chem. **236**, 372 (1938).

Nachtrag zum Literaturverzeichnis.

128. Schumb, W. C.: Die Halogenide und Oxyhalogenide des Siliciums. Chem. Rev. **31**, 587 (1942).
129. Goubeau, J., u. R. Warncke: Die Hydrolyse von Siliciumhalogeniden. Z. ang. Chem. A **1948**, 73.
130. Jenkins, J. W., N. L. Lavery, P. R. Guenther, and H. W. Post: Silico-organic compounds. VII. The preparation and properties of certain substituted silanes. J. Org. Chem. **13**, 862 (1948).
131. Hurd, C. D., and W. A. Yarnall: Preparation of organic-silicon-chlorides. J. Amer. chem. Soc. **71**, 755 (1949).
132. Larsson, E.: The Preparation of tetraethylsilane. Trans. Chalmers Univ. Technol., Gothenberg, Swed. No. **79**, 3 (1948).

133. SELLERS, J. E., and J. L. DAVIS: Organosilicon compounds. US-Patent 2449821. Chem. Abstr. **43**, 1051 (1949).
134. GILLIAM, W. F.: Dialkyl-substituted dihalosilanes. US-Patent 2464033. Chem. Abstr. **43**, 4286 (1949).
135. INFIESTA, J. L., and M. A. ACHON: Methylpolysiloxanes by direct synthesis. I. Preparation of methylchlorosilanes. An. Espan. **44** B, 1033 (1948).
136. RICCOBONI, L., and M. ZOTTA: Direct synthesis of phenylchlorosilanes. J. Amer. chem. Ind. (London) **67**, 235 (1948).
137. AGRE, C. L.: Preparation and reaction of (1,2-dichloro-vinyl)-trichlorsilane. J. Amer. chem. Soc. **71**, 300 (1949).
138. HUBBEL: US-Patent 2420540.
139. *Gen. Electric Comp.*: US-Patent 2443902.
140. NEWKIRK, A. E.: Resolution of an azeotropic mixture of $(CH_3)_3SiCl$ with $SiCl_4$. US-Patent 2499815. Chem. Abstr. **43**, 1051 (1949).
141. ANDERSON, H. H.: Ethylgermanium Isocyanates. J. Amer. chem. Soc. **71**, 1799 (1949).
142. — Ethylsilicon isothiocyanates. J. Amer. chem. Soc. **71**, 1801 (1949).
143. GILMAN, H., and F. J. MARSHALL: Cleavage of some Organosilanes by Hydrogen Chloride. J. Amer. chem. Soc. **71**, 2066 (1949).
144. SWAIN, C. G., R. M. ESTEVE and R. H. JONES: Organosilicon Chemistry: The Mechanismus of Hydrolysis of Triphenylsilyl-fluoride and Triphenylmethyl-fluoride in 50% Water — 50% Acetone Solution. J. Amer. chem. Soc. **71**, 965 (1949).
145. SOMMER, L. H., J. R. GOLD, G. M. GOLDBERG and N. S. MARANS: Polar Effects of Organosilicon Substituents in Carboxylic Acids. J. Amer. chem. Soc. **71**, 1509 (1949).
146. WEISSLER, A.: Ultrasonic Investigation of Molecular Properties of Liquids: III. Linear Polymethylsiloxanes. J. Amer. chem. Soc. **71**, 93 (1949).
147. BOOTH, H. S., and R. L. JARRY: Methyldichlorsilane and its Fluorination Products. J. Amer. chem. Soc. **71**, 971 (1949).

(Abgeschlossen Juli 1949.)

Prof. Dr. H. W. KOHLSCHÜTTER, (16) Darmstadt, Eduard-Zintl-Institut für Anorganische und Physikalische Chemie der Technischen Hochschule.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 61—118 (1949).

Probleme der Wärmeleitung in Gasen bei niedrigem Druck und der Energieübertragung an festen Oberflächen.

Von

KLAUS SCHÄFER.

Mit 14 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht.

Seite

A. Einleitung und Problemstellung 61
B. Meßmethoden 63
a) Messung des A.K. bei extrem niedrigen Drucken 63
b) Gleichzeitige Ermittlung von α und C_v 67
c) Messungen bei höheren Drucken im Gebiet des Temperatursprungs . 70
C. Ergebnisse 77
a) Gesichtspunkte zur Auswertung der erhaltenen Resultate 77
b) Einatomige Gase 80
α) Direkte experimentelle Resultate 80
β) Theoretische Ansätze für die Akkommodation der Translationsenergie 83
c) Zweiatomige Molekeln. Akkommodation der Rotationsenergie . . . 84
α) Experimentelle Resultate 84
β) Theoretisches 86
d) Mehratomige Gase 88
α) Unmittelbare Ergebnisse 88
β Die Akkommodation von Translations- und Rotationsenergie mehratomiger Molekeln 91
γ) Die Ermittlung der Einstelldauern aus Akkommodation und Adsorption 97
δ) Theoretische Betrachtungen für die Übertragung von Schwingungsenergie 101
1. Allgemeine Bemerkungen 101
2. Das Modell 101
3. Ansatz der Wechselwirkungsenergie beim Schwingen 104
4. Übergangswahrscheinlichkeiten 106
5. Akkommodationskoeffizienten 108
D. Schlußbetrachtungen 110
a) Anwendungen 110
b) Ausblicke 112
α) Allgemeines 112
β) Adsorptionsisotherme 114
Literaturverzeichnis 116

A. Einleitung und Problemstellung.

Die genaue Kenntnis des Verhaltens der Molekeln im adsorbierten Zustand, insbesondere bei Adsorption an festen Oberflächen, ist für viele chemische und physikalisch-chemische Fragen von besonderer Bedeutung. So sind wesentliche Probleme, die mit der katalytischen

Wirkung von Kontakten zusammenhängen, eng gekoppelt an die Art der adsorptiven Bindung der Reaktionsteilnehmer an die Kontaktoberfläche (*1*). Unsere den adsorbierten Zustand betreffenden Kenntnisse sind jedoch leider noch in vieler Hinsicht lückenhaft.

Dies zeigt sich schon bei der einfachen thermischen Zustandsgleichung der Adsorption. Obwohl wir für diese eine ideale Form in Gestalt der LANGMUIRschen Isotherme besitzen, zeigen die tatsächlich beobachteten Adsorptionsisothermen meist einen merklich anderen Verlauf, wofür man im Einzelfalle natürlich mannigfache Gründe anführen kann. Generell liegt der Grund dafür an der heterogenen Beschaffenheit der Oberflächen, die keineswegs solch gleichmäßig strukturierte „Phasen" darstellen wie etwa die gasförmige oder feste Phase. Dazu kommt, daß überhaupt dem adsorbierten Zustand erst in neuerer Zeit Aufmerksamkeit geschenkt wurde und mithin noch nicht im entsprechenden Maße Material über ihn zusammengetragen worden ist wie über die anderen normalen Aggregatzustände (*2*).

Bezüglich der calorischen Verhältnisse der adsorbierten Molekeln wissen wir noch weniger, weil eine direkte experimentelle Erfassung der calorischen Eigenschaften adsorbierter Molekeln noch nicht gelungen ist und eine indirekte Ermittlung immer den Übergang zu Differentialquotienten verlangt, die experimentell naturgemäß mit einer größeren Ungenauigkeit behaftet sind. Es bleibt weiter noch der Weg über theoretisch ableitbare Gleichgewichtsbeziehungen (z. B. für die Adsorptionsisotherme), welche calorische Daten enthalten, um aus dem experimentell zugänglichen Gleichgewicht Rückschlüsse auf das calorische Verhalten der adsorbierten Molekeln zu ziehen (*3*). Es ist einleuchtend, daß diese Schlüsse alle mit mehr oder weniger großen Unsicherheiten verknüpft sind und es wünschenswert ist, möglichst viel derartiges Material zusammenzutragen, um zu genaueren Aussagen zu gelangen.

Mit den calorischen Problemen eng gekoppelt ist die Frage nach der Art der Energieübertragung von der adsorbierten Molekel auf die adsorbierende Wand und umgekehrt, eine Frage, die sicher für eine große Zahl von chemischen Problemen von Bedeutung werden wird. Aussagen über den Mechanismus dieser Übertragung sind nun ebenso wie bei den entsprechenden Problemen der chemischen Kinetik nur durch Beobachtung der Gesamtgeschwindigkeit, mit der die Energie zwischen adsorbierter Molekel und dem Adsorbens übertragen wird, zu erhalten. Es geschieht dies gewöhnlich durch Bestimmung der sog. thermischen Akkommodation, d. h. des thermischen Akkommodationskoeffizienten, der im folgenden einfach als Akkommodationskoeffizient (A.K., Plural: A.Ken.) bezeichnet wird.

Der A.K. mißt nun eigentlich einen Gleichgewichtszustand und noch nicht direkt die Geschwindigkeit, mit der die Energieübertragung an

adsorbierte Molekeln erfolgt; er ist nämlich in folgender Weise definiert: Wenn Gasmolekeln, deren durchschnittliche Energie der Temperatur T_0 entspricht, auf die Oberfläche eines Festkörpers von der Temperatur T_f aufprallen, so werden sie dort adsorbiert und fliegen nach einem kurzen oder längeren Verweilen wieder fort, wobei sie dann eine durchschnittliche Energie besitzen, welche der zwischen T_f und T_0 gelegenen Temperatur T_m entspricht. Den Wert des echten Bruches

$$\alpha = \frac{T_m - T_0}{T_f - T_0} = \frac{\Delta Q_{\text{real}}}{\Delta Q_{\text{ideal}}} \tag{1}$$

bezeichnet man als den A.K. des Gases an der betreffenden Oberfläche. Er kann, wie aus Gl. (1) ersichtlich ist, auch definiert werden als das Verhältnis der von den Molekeln tatsächlich aufgenommenen — oder, wenn $T_f < T_0$, abgegebenen — Wärmemenge ΔQ_{real} zur idealerweise (d. h. bei 100%iger Akkommodation) austauschbaren Wärmemenge ΔQ_{ideal}. An sich ist es nicht erforderlich, daß es sich um eine feste Oberfläche handelt, man kann die Akkommodation natürlich auch an flüssigen Oberflächen untersuchen; jedoch werden uns diese flüssigen Oberflächen im folgenden nicht beschäftigen. Es ist nun ohne weiteres einleuchtend, daß der A.K. einerseits um so größer sein wird, je länger die Molekeln im adsorbierten Zustand verweilen, zum andern je schneller die Energie vom Adsorbens auf den Sorbenden übertragen wird, vice versa. Die gleichzeitige Messung des A.K. und der Verweilzeit des Sorbenden wird dann den gesuchten Aufschluß über die Geschwindigkeit der Energieübertragung liefern.

Über die Einzelheiten dieses Vorganges und das, was wir heute experimentell und theoretisch darüber aussagen können, soll im folgenden näher berichtet werden.

B. Meßmethoden.

a) Messung des A.K. bei extrem niedrigem Druck.

Zunächst wollen wir uns mit den Meßmethoden, die zur Ermittlung des A.K. dienen, befassen. Seine Bestimmung erfolgt generell durch Messung des Wärmeleitvermögens in Gasen bei kleinem Druck. Da diese Messungen immer so erfolgen, daß der Temperaturunterschied zwischen einer kalten und einer warmen „Wand" in Abhängigkeit von dem dazwischen befindlichen Gas beobachtet wird, geht nämlich auch der Wärmeübergang zwischen Gas und Wand, der wesentlich von der Akkommodation abhängt, in den gesamten Energieübergang mit ein.

Der Wärmeleitungsvorgang erfolgt ja kurz gesagt so, daß direkt an der Wand der Mechanismus der Akkommodation des Gases an der Wand maßgebend ist, während im Innern des Gases der Stoßmechanismus zwischen den Molekeln den Energietransport besorgt. Der Mechanismus der Akkommodation macht sich auf den Temperaturverlauf im

Gase jedoch nur bis in eine Entfernung von etwa einer mittleren freien Weglänge von der Wand bemerkbar; wenn nun bis in diese Entfernung hinein bereits ein merklicher Bruchteil der Temperaturänderung zwischen warmer und kalter Wand überbrückt wird, so wird der gegenüber dem Innern des Gases geänderte Energieübertragungsmechanismus an der Wand auf das gesamte Wärmeleitvermögen des Gases zwischen den Wänden deutlich (sog. Druckabfall). Darum ist es eben wichtig, um die Effekte der Akkommodation gut messen zu können, wenn die mittlere freie Weglänge schon relativ groß ist, d. h. wenn der Gasdruck gering ist.

Am einfachsten werden die Verhältnisse, wenn der Gasdruck so klein ist, daß die Gasmolekeln direkt von der warmen Wand an die kalte fliegen, ohne unterwegs miteinander zusammenzustoßen. Die Messung erfolgt in der Regel so, daß ein in einem Glasgefäß aufgespannter Metalldraht elektrisch über die Temperatur der äußeren Gefäßwände aufgeheizt wird. Im stationären Zustand ist die dem Draht durch die Gasmolekeln je Zeiteinheit entzogene Wärme $\dot{Q}$ gleich dem Produkt aus der Zahl der Teilchen, die in dieser Zeit auf den Draht auftreffen, multipliziert mit der Wärme, welche die einzelne Molekel dem Draht im Mittel entzieht. Die erste Zahl ist proportional der Zahl ${}^1N$ von Molekeln in der Volumeneinheit und der mittleren Molekulargeschwindigkeit $\overline{w}$, während die entzogene Wärme proportional zu $\left(C_v + \frac{R}{2}\right)$ ist, wo R die Gaskonstante und C_v die Molwärme ist. Der letzte Proportionalitätsfaktor ist $\alpha \cdot \frac{\Delta T}{N_L}$, wo N_L die LOSCHMIDTsche Zahl ist, wenn auf den Umsatz je Molekel bezogen wird. Hier geht natürlich nur der Bruchteil α der Temperaturdifferenz ΔT zwischen Draht und kalter Gefäßwand ein, wenn der A.K. der Gasmolekeln am Draht mit α bezeichnet wird. Die Akkommodation an der äußeren Glaswand spielt praktisch keine Rolle, da deren Oberfläche im Vergleich zur Drahtoberfläche „unendlich groß" zu sein pflegt, so daß die Gasmolekeln, bevor sie einmal auf den Draht stoßen, so viel Zusammenstöße mit der kalten Glaswand erleiden, daß sie deren Temperatur praktisch vollständig akkommodiert haben.

Es erscheint vielleicht auf den ersten Blick merkwürdig, daß der Wärmetransport durch die Molekeln proportional zu $C_v + \frac{R}{2}$ und nicht proportional C_v ist. Dies letztere wäre aber nur der Fall, wenn kein Zusammenhang zwischen der Geschwindigkeit der Molekeln und der transportierten Energie bestünde, was wohl bezüglich der Rotationsenergie und Schwingungsenergie der Molekeln zutrifft, nicht aber bezüglich der Translationsenergie; denn die schnelleren Molekeln transportieren ja gleichzeitig auch die größere Energie. So kommt es, daß der Transport an kinetischer Energie anstatt durch einen zu $\overline{w} \cdot \frac{3}{2} R$ proportionalen Wert durch einen um den Faktor $\frac{1}{3}$ größeren Betrag gegeben wird, was eben bedingt, daß der Molwärme überall noch das Glied $R/2$ hinzuzufügen ist (*4*).

Somit erhalten wir schließlich:

$$\dot{Q} = A \frac{^1N}{N_L} \overline{w} \alpha \left(C_v + \frac{R}{2}\right) \Delta T = A^* p \overline{w} \alpha \left(C_v + \frac{R}{2}\right) \Delta T, \qquad (2)$$

wo wir in der zweiten Beziehung an Stelle der Zahl ^1N den Druck eingeführt haben. Die Konstanten A und A^* sind Apparatkonstanten, die von der gesamten Oberfläche O des Drahtes abhängen und im einzelnen die Werte $\frac{1}{4} O$ bzw. $\frac{1}{4} O/RT$ besitzen (*4*); sie sind jedoch meist nicht mit der nötigen Genauigkeit definiert, weshalb man es gewöhnlich vorzieht, Relativmessungen zu machen, indem man ein bekanntes Gas (*b*) mit einem unbekannten Gase (*x*) vergleicht; man erhält dann

$$\frac{\dot{Q}_x}{\dot{Q}_b} = \frac{p_x}{p_b} \frac{\overline{w}_x}{\overline{w}_b} \frac{\alpha_x \left(C_v + \frac{R}{2}\right)_x}{\alpha_b \left(C_v + \frac{R}{2}\right)_b} \frac{\Delta T_x}{\Delta T_b}, \qquad (3)$$

wo dann die Proportionalitätsfaktoren herausgefallen sind. $\dot{Q}$ wird durch die elektrische Heizenergie in Watt gemessen, die Bestimmung der Übertemperatur des Drahtes ΔT kann aus dessen elektrischem Widerstand erfolgen, die Geschwindigkeiten $\overline{w}$ sind $\sqrt{T/M}$ (M = Molmasse) proportional, wo sich die Proportionalitätsfaktoren $\sqrt{8R/\pi}$ im Zähler und Nenner noch gegenseitig wegheben, so daß man, wenn bei beiden Messungen die gleiche Tempertur vorliegt, was gewöhnlich zutrifft, für $\overline{w}_x/\overline{w}_b$ einfach $\sqrt{M_b/M_x}$ setzen kann. Die Drucke p_x und p_b, die meist von der Größe 10^{-3} mm Hg gewählt werden, können durch definierte Verdünnung von einem kleinen Anfangsvolumen mit bequem meßbarem Anfangsdruck auf ein sehr großes Endvolumen hergestellt werden. Bei bekanntem $\alpha_b \cdot \left(C_v + \frac{R}{2}\right)_b$ ist mithin aus Gl. (3) der Wert von $\alpha_x \cdot \left(C_v + \frac{R}{2}\right)_x$ zu entnehmen. Über den A.K. von x kann man infolgedessen nur Aussagen machen, wenn die Molwärme des Gases x bekannt ist. Diese Voraussetzung kann zunächst natürlich gemacht werden, indem man die Molwärme aus anderweitigen Experimenten entnimmt; immerhin wäre es wünschenswert, wenn man etwa gleichzeitig — bzw. in der gleichen Apparatur — α_x und $\left(C_v + \frac{R}{2}\right)_x$ messen könnte. Dieser letzte Gedanke liegt insofern nahe, als die beschriebene Methode im Falle $\alpha = 1$ hervorragend zur Messung von Molwärmen geeignet wäre.

Wir brauchen natürlich, um überhaupt in der angegebenen Weise vorgehen zu können, zunächst einmal die Kenntnis des A.K. für ein Gas. Prinzipiell wäre es möglich, an Gl. (2) anknüpfend eine Absolutmessung vorzunehmen, um mit Hilfe von $A = O/4$ den A.K. direkt auszurechnen. Wegen der meist nur ungenauen Erfassung der Gesamt-

oberfläche des Drahtes ist dieser Weg wenig empfehlenswert; dazu kommt, daß die Temperatur längs des Heizdrahtes wegen der Ableitung an den Drahtenden nicht konstant ist, man also nicht durchweg mit konstantem ΔT bei der Absolutberechnung operieren darf. Alle diese Komplikationen werden bei den Relativmessungen vermieden, weil sich die Fehler gegenseitig in Formel (3) herausheben. Man sucht sich deshalb am besten zwei relativ schwere Gase aus, deren Verweilzeiten am Draht recht groß sein werden, so daß man bei diesen $\alpha = 1$

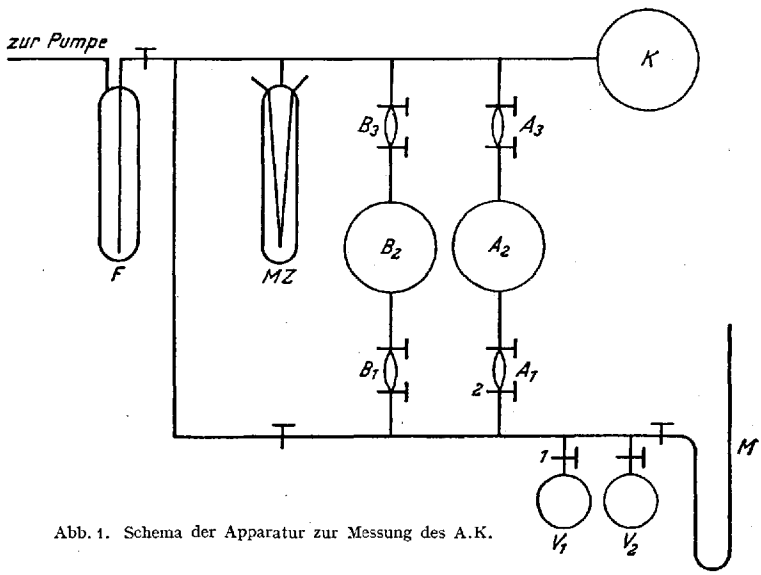


Abb. 1. Schema der Apparatur zur Messung des A.K.

vermuten darf. Wenn man dann bei der Auswertung der Gl. (3) für diese Gase feststellt, daß in einem größeren Temperaturintervall $\frac{\alpha_1\left(C_v+\frac{R}{2}\right)_1}{\alpha_2\left(C_v+\frac{R}{2}\right)_2}$ innerhalb der Fehlergrenzen des Experimentes mit $\frac{\left(C_v+\frac{R}{2}\right)_1}{\left(C_v+\frac{R}{2}\right)_2}$ übereinstimmt, so wird man dies als Bestätigung dafür ansehen dürfen, daß $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$ sein wird. Mit diesen Gasen kann man dann die anderen, bei denen $\alpha < 1$ ist, vergleichen. Nachdem heute von einer Reihe von Gasen die A.Ken. bereits in mehr oder weniger großen Temperaturgebieten bekannt sind, kann man natürlich gleich auf diese Gase als Vergleichsgase die Messungen der anderen beziehen.

In der Abb. 1 ist das Schema der gesamten Versuchsanordnung angegeben. Aus den Vorratsgefäßen V_1 und V_2 läßt man die beiden Versuchsgase in die Gaspipetten A_1 und B_1 ein, deren Druck man am Manometer M abliest. Die Gase kann man dann zunächst über die größeren Volumina A_2 und B_2 verdünnen und bei einem entsprechend

kleineren Druck in den Pipetten A_3 und B_3 auffangen, von wo sie weiter auf das große Volumen K ausgedehnt werden, mit dem die Meßzelle $M.Z.$ verbunden ist. Man kann nun abwechselnd aus den Pipetten A_3 und B_3 die Gase immer wieder in K und $M.Z.$ einströmen lassen und jeweils die Temperaturdifferenz ΔT des Drahtes in der Meßzelle aus dessen Widerstand mit Hilfe einer WHEATSTONEschen Brückenanordnung, die nicht eingezeichnet ist, bestimmen.

Diese Methodik hat den Vorteil, daß die Wärmestrahlung, die sich naturgemäß der durch die Gasmolekeln bedingten Wärmeleitung überlagert, eliminiert wird. Es sei ferner bemerkt, daß man bei normaler Dimensionierung der Apparaturteile auf Drucke kleiner als $2—3 \cdot 10^{-3}$ Torr beschränkt ist, wenn man Störungen durch ungleichmäßige thermomolekulare Druckdifferenzen vermeiden will, sofern man die Meßzelle auf Temperaturen bringt, die von Zimmertemperatur wesentlich abweichen, man also den A.K. bei höheren oder tieferen Temperaturen untersucht.

Zweckmäßig wählt man die Drucke im System A und B so, daß die Temperaturveränderungen beim Einlassen der verschiedenen Gase aus A_3 und B_3 einander jeweils gleich sind. Der relativ große Kolben K bringt gleichzeitig den Vorteil mit sich, daß wegen der dadurch relativ kleinen Oberfläche im Vergleich zum Rauminhalt des Volumensystems $K + MZ$ eine eventuelle Gasadsorption an den Glaswänden nur wenig störend ins Gewicht fällt, zumal wenn man den Kolben K noch auf eine bestimmte höhere Temperatur erhitzt. Wegen weiterer Einzelheiten der experimentellen Durchführung dieser Methode sei auf die Originalarbeiten verwiesen (*5*).

b) Gleichzeitige Ermittlung von α und C_v.

Wie schon oben (S. 65) angedeutet, liegt es nahe, zu versuchen, die Methode so auszuarbeiten, daß neben dem Produkt $\alpha \cdot \left(C_v + \frac{R}{2}\right)$ auch einer der Faktoren α oder $C_v + \frac{R}{2}$ mitbestimmt wird, womit dann natürlich auch der andere bekannt wird. Im Anschluß an eine auf A. EUCKEN zurückgehende Überlegung geschieht dies in folgender Weise (*6*): Spannt man unmittelbar neben dem Draht ein dünnes Metallband des gleichen Metalls wie der Draht aus, so werden die Molekeln, die den Draht treffen, ganz gleich, ob sie unmittelbar vorher mit dem Bande zusammenstießen oder nicht, dem Draht die gleiche Wärme entziehen wie beim Fehlen des Bandes, wenn dies letztere nur die gleiche Temperatur wie die äußere Glaswand besitzt.

Vergleicht man nun wieder zwei Gase bei einer Größe der Drucke p_x und p_b, bei der einerseits die mittlere freie Weglänge groß gegen die Gefäßdimensionen ist, zum andern aber die Wärmeleitung in beiden

Fällen gleich ist, dann kann man die Temperatur des Drahtes noch dadurch beeinflussen, daß man das Band in seiner Umgebung in definierter Weise aufheizt. Die hierdurch bedingte Temperaturerhöhung wird jetzt von den Gasmolekeln herrühren, die unmittelbar vor dem Auftreffen auf den Draht mit dem geheizten Bande zusammenstießen. Diese Molekeln verlassen aber das Band, weil sie ja vorher im wesentlichen von der kalten Glaswand kamen, mit einer Temperatur $\alpha \cdot \Delta T_{\text{Band}} + T_{\text{Wand}}$; dies folgt direkt aus der Definition Gl. (1) des A.K. und aus der Tatsache, daß das Band, weil es aus dem gleichen Material wie der Draht besteht, ebenfalls den Wert α des A.K. besitzt. Infolgedessen wird die bei der definierten, in beiden Fällen konstanten Aufheizung des Bandes zu beobachtende zusätzliche Temperaturerhöhung des Drahtes dem A.K. proportional sein. Dieses Ergebnis hängt wesentlich an der Tatsache, daß beide Gase vorher auf gleiche Gesamtwärmeleitung abgeglichen waren.

Man ermittelt also das Verhältnis der A.K. der beiden Gase, indem man bei konstanter Aufheizung des Bandes die dadurch zusätzlich verursachte Temperaturerhöhung des Drahtes $\Delta T_D(z)$ durcheinander dividiert, wobei sich eben wieder die unbekannten, aber gleichen Proportionalitätsfaktoren herausheben. Man hat also schließlich:

$$\frac{\alpha_x}{\alpha_b} = \frac{[\Delta T_D(z)]_x}{[\Delta T_D(z)]_b}, \tag{4}$$

so daß bei bekanntem α_b der A.K. des unbekannten Gases direkt aus Gl. (4) errechnet werden kann, womit man dann, da aus der Messung gemäß Gl. (3) auch $\alpha_x \left(C_v + \frac{R}{2}\right)_x$ erhalten werden kann, gleichzeitig auch die Molwärme des unbekannten Gases bekommt.

Der Umstand, daß neben der Wärmeleitung durch die Molekeln auch die Wärmestrahlung eine zusätzliche Erwärmung des Drahtes bei aufgeheiztem Bande bedingt, bringt es mit sich, daß man Gl. (4) noch wegen der Wärmestrahlung korrigieren muß. Es kann dies dadurch geschehen, daß man das Verhältnis $[\Delta T_D(z)]_x : [\Delta T_D(z)]_b$ bei verschiedenen Gesamtdrucken der Gase — natürlich immer bei gleichem Druckverhältnis, damit die Wärmeleitung durch die verschiedenen Molekelsorten immer die gleiche ist — beobachtet und die so erhaltenen noch vom Gesamtdruck p etwas abhängigen Werte von $[\Delta T_D(z)]_x : [\Delta T_D(z)]_b$ auf hohe Drucke hin extrapoliert, denn bei diesen tritt der durch die Strahlung bedingte Anteil gegenüber dem durch die hier interessierende Wärmeleitung bedingten Anteil immer mehr in den Hintergrund. Die bei der Extrapolation erstrebten „hohen Drucke" müssen natürlich immer noch so niedrig sein, daß die mittlere freie Weglänge genügend groß ist, um den Transport vom Draht an die Gefäßwand praktisch in einem Stoß

zu besorgen. Man kann selbstverständlich diese Elimination der Wärmestrahlung und der damit verbundenen Effekte auch durch „Eichung" ausschalten, indem man zunächst nicht mit einem bekannten Gase Versuche macht, sondern mit einer größeren Anzahl, so daß man $\Delta T_D(z)$ direkt als Funktion des A.K. ermittelt (*6*). Nach den obigen Ausführungen ist es einleuchtend, daß $\Delta T_D(z)$ mit großer Annäherung linear von α abhängen wird, wenn der Gasdruck in der Meßzelle genügend „hoch" ist.

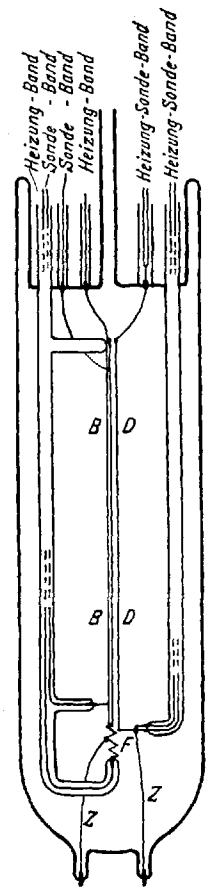


Abb. 2. Meßzelle zur gleichzeitigen Ermittlung von A.K. und Molwärme.

Die experimentelle Durchführung dieses Verfahrens erfolgt prinzipiell mit Hilfe der in Abb. 1 dargestellten Apparatur; lediglich die Meßzelle besitzt jetzt eine kompliziertere Konstruktion, die in Abb. 2 wiedergegeben ist. Durch das obere Rohr R werden die zu messenden Gase eingelassen; B ist das Metallband, neben dem im Abstand von etwa 1 mm der Heizdraht D aufgespannt ist. Das Band ist an zwei von einer Glasröhre abzweigenden Glasansätzen befestigt, in einiger Entfernung von den Enden befinden sich Anschmelzungen von Drähten, die als Sonden die Spannung und den Widerstand auf diesem Teil des Bandes zu messen gestatten. Eine Feder F sorgt für die nötige Spannung des Bandes; außerdem befinden sich im unteren Teil der Meßzelle noch zwei Zuleitungen Z aus dickeren Platindrähten zwischen Band bzw. Draht und der Glaswand, was für einen besseren Temperaturausgleich sorgt, denn bei den zur Messung benutzten kleinen Drucken teilt sich nur schwer die Außentemperatur den Metallteilen im Innern des Gefäßes mit. Der Draht D ist in prinzipiell der gleichen Weise mit Sonden und Heizleitungen versehen wie das Band. Da der elektrische Widerstand des Bandes wegen seines im Verhältnis zum Draht großen Querschnitts recht klein ist, benutzt man zur elektrischen Messung jetzt zweckmäßig die Kompensationsmethode an Stelle der Brückenmessung, zumal man ja ohnehin zur Ermittlung der elektrischen Energiezufuhr $\dot{Q}$ die Spannung messen muß. Wegen weiterer Einzelheiten der experimentellen Durchführung mag wieder auf Originalarbeiten verwiesen werden (*6*). Ebenso sei betreffs der weniger einfachen und weniger genauen optischen Methoden zur A.K.-Bestimmung auf die Literatur verwiesen (*6a*).

c) Messungen bei höheren Drucken im Gebiet des Temperatursprungs.

Man kann auch so vorgehen, um über den A.K. Aufschluß zu erhalten, daß man das Wärmeleitvermögen des Gases bei solchen Drucken untersucht, bei denen die mittlere freie Weglänge nicht mehr groß, sondern nur vergleichbar mit den Gefäßdimensionen ist. Wie oben (S. 64) schon ausgeführt wurde, handelt es sich dann um die Messung des sog. Druckabfalls der Wärmeleitfähigkeit, der von dem in der Nähe der Wände auftretenden, durch den dort vorliegenden Energieübertragungsmechanismus bedingten Temperaturverlauf (sog. „Temperatursprung") herrührt.

Das Auftreten des „Temperatursprungs" kommt im einzelnen wie folgt zustande: Der Wärmetransport durch einen Querschnitt erfolgt im Innern des Gases so, daß von der einen Seite „wärmere" Molekeln in Richtung von warm nach kalt den Querschnitt passieren, während „kältere" Molekeln in der umgekehrten Richtung hindurchfliegen. Dieser „Wärme"- und „Kälte"strom tragen beide in gleicher Weise zu dem Wärmeleitvermögen bei, ähnlich wie die Ströme positiver und negativer Elektrizitätsträger zusammen die Größe des elektrischen Stromes ausmachen. Der Wärmefluß im Gase ist also, wenn man so sagen darf, beiderseitig gleichmäßig; dies ändert sich an den Wänden. Wenn nämlich der Temperaturverlauf ohne den erwähnten Temperatursprung ebenso wie im Innern bis an die Wände weiter verliefe, so würde man durch einen Querschnitt in unmittelbarer Nähe der warmen oder der kalten Berandung einen kleineren Wärmefluß erhalten als im Innern, weil dann kältere bzw. wärmere Molekeln nur aus einer Richtung den Querschnitt passieren würden, während die aus der anderen Richtung kommenden Partikeln nicht mehr im gleichen Maße kälter bzw. wärmer sein könnten, denn diese können eben höchstens die Temperatur der Berandung besitzen, die sich eben wegen des kleinen Abstandes des betrachteten Querschnitts nicht mehr genügend von der Temperatur an der Stelle des Querschnitts unterscheidet. Weil aber der Wärmefluß überall im Gase, also auch in der Nähe der Berandung, derselbe sein muß (stationärer Zustand), so wird eben ein wesentlich größerer Wert des Temperaturgradienten in der Nähe der Wände erforderlich (Temperatursprung), um den überall konstanten Wärmefluß zu garantieren. Haben wir also eine gegebene Temperaturdifferenz zwischen warmer und kalter „Wand", so erhalten wir demnach im Innern einen verhältnismäßig kleineren Temperaturgradienten und damit einen geringeren Wärmetransport, da ja im Innern der normale Transportmechanismus gilt. Einen großen Temperatursprung bekommt man aber bei großer mittlerer freier Weglänge, die wenigstens mit den Apparatdimensionen vergleichbar ist, denn dann erstreckt sich der in der Nähe der Wände vergrößerte Temperaturgradient relativ weit ins Innere des Gases und bedingt dort

den geringeren Temperaturgradienten. Es resultiert somit bei kleineren Drucken der niedrigere Wärmetransport durch das Gas und damit ein kleineres Wärmeleitvermögen als bei höheren Drucken. Die Größe des Temperatursprungs und damit die des Druckabfalls des Wärmeleitvermögens hängt noch von dem A.K. des Gases an den Wänden ab, weil ja der Anteil des Wärmetransports durch eine Fläche in der Nähe der Wand von der Seite der Wand her durch die Größe des A.K. beeinflußt wird, denn die Verschiedenartigkeit des Energietransportmechanismus von den beiden Seiten eines wandnahen Querschnitts war es ja, welche die Erscheinung des Temperatursprungs zur Folge hatte. Daher kommt es, daß der Druckabfall des Wärmeleitvermögens der Gase zur Messung des A.K. herangezogen werden kann.

Wenn nun wieder mit der beschriebenen, auf SCHLEIERMACHER (*7*) und EUCKEN (*8*) zurückgehenden Drahtmethode das Wärmeleitvermögen untersucht wird, so macht sich der Druckabfall der Wärmeleitfähigkeit bemerkbar, wenn die mittlere freie Weglänge der Gesamtmolekeln mit dem Drahtradius vergleichbar wird. Denn es findet ja die wesentlichste Temperaturänderung im Gase zwischen Draht und kalter Gefäßwand in unmittelbarer Nähe des Drahtes statt. Wenn jetzt die mittlere freie Weglänge von der Größe des Drahtradius wird, so muß sich also auch die Wirkung des „Temperatursprungs" bis in diese Entfernung vom Draht erstrecken und eine wesentliche Abweichung von dem idealen Temperaturverlauf bedingen. Darum wird also schon bei diesen Drucken im Innern des Gases ein merklich kleinerer Temperaturgradient als im Idealfall vorliegen, weshalb der Wärmetransport zwischen Draht und Wand bei gleicher Temperaturdifferenz zwischen diesen wesentlich geringer ist als im Idealfall, d. h. bei höheren Gasdrucken, wo das Wärmeleitvermögen des Gases unabhängig vom Druck und die mittlere freie Weglänge der Gasmolekeln klein gegen den Drahtradius ist.

Bei der meist üblichen Dimensionierung ($r_D \approx 10^{-3}$) ist die mittlere freie Weglänge bei einigen Millimeter Hg bereits gleich dem Drahtradius r_D, so daß dann also bereits ein deutlicher Druckabfall des Wärmetransports festzustellen ist.

Beobachtet man den Druckabfall in einem Plattenapparat (*9*), in dem kalte und warme Wand geometrisch symmetrisch zur Mittelebene zwischen ihnen angeordnet sind, so muß natürlich die mittlere freie Weglänge mit dem Abstand der Platten vergleichbar sein, damit der Druckabfall prozentual merklich ins Gewicht fällt, was jetzt erst bei viel kleineren Gasdrucken der Fall ist als bei den Drahtapparaten (bei den üblichen Dimensionierungen im Gebiet unter 10^{-1} mm Hg).

Die Auswertung der Wärmeleitfähigkeitsmessungen zur Bestimmung des A.K. hängt also wesentlich von der Größe des Temperatursprungs ab.

Wenn nun die Molekeln, die sich in solch einer Entfernung von der Wandung befinden, daß sie in einem Elementarakt — also ohne miteinander zusammenzustoßen — an die Wand zu fliegen vermögen, die durchschnittliche Temperaturdifferenz ΔT gegen die der Wand aufweisen, so gilt nach Gl. (2) für die der Wand je Zeiteinheit zugeführte oder abgeleitete Wärme:

$$^1\dot{Q} = \frac{O}{4} \cdot \alpha\, {}^1N\, \overline{w}\, \frac{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)}{N_L} \Delta T. \tag{5}$$

Im stationären Betriebe muß dieser Wärmefluß demjenigen im Innern des Gases gleich sein, woraus im Falle eines zentrierten Drahtes als „warmer Wand" folgt:

$$\frac{r_D}{4} \alpha\, {}^1N\, \overline{w}\, \frac{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)}{N_L} \Delta T_D = - r\, \lambda_\infty \left(\frac{\partial T}{\partial r}\right)_{\text{Inneres}}, \tag{5a}$$

wo λ_∞ der Wert des Wärmeleitvermögens des Gases bei „hohem" Druck ist, bei dem dieser unabhängig vom Druck ist. Hat man eine ebene Plattenanordnung, so ist an Stelle von Gl. (5a) zu setzen:

$$\frac{\alpha}{4} {}^1N\, \overline{w}\, \frac{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)}{N_L} \Delta T_W = - \lambda_\infty \left(\frac{\partial T}{\partial x}\right)_{\text{Inneres}}, \tag{5b}$$

weil sich jetzt die Oberflächengröße der Wand links gegen die gleich große Durchtrittsfläche des Wärmestroms im Innern forthebt. Für die Wärmeleitfähigkeit λ_∞ kann noch entsprechend der kinetischen Gastheorie unter Verwendung der mittleren freien Weglänge Λ geschrieben werden: $0{,}499\, \Lambda\, {}^1N\, \overline{w}\, \frac{C_v}{N_L} \cdot k$, wo k das Verhältnis $\lambda M / C_v \eta$ darstellt (η = Viscosität; M = Molmasse), das im wesentlichen von der Zahl der Atome abhängt, welche die gerade betrachtete Gasmolekel aufbauen (*10*).

Man kann nunmehr aus den Gl. (5a) bzw. (5b) den Temperatursprung ΔT ermitteln und ausrechnen, wenn man noch beachtet, daß der Temperatursprung erst in einer gewissenEntfernung von der Wand erreicht wird, wie groß $r \cdot (\partial T/\partial r)_{\text{Inneres}}$ beim Drahtapparat bzw. $(\partial T/\partial x)_{\text{Inneres}}$ bei der ebenen Plattenanordnung ist. Vergleicht man diese Werte mit denjenigen von $r\,(\partial T/\partial r)_{\text{Inneres}}$ bzw. $(\partial T/\partial x)_{\text{Inneres}}$, die man unter der Annahme völligen Fehlens des Phänomens des Temperatursprungs bei gleichen Temperaturen von warmer und kalter Wand errechnet, so hat man damit auch das Verhältnis des Wärmeleitvermögens λ_p bei kleinem Druck, wo der Temperatursprung sich bemerkbar macht, zu dem Wert λ_∞ bei hohem Druck.

Die Durchrechnung liefert dann für den Fall des zentrierten Drahtes folgendes Resultat, wegen dessen exakter Ableitung auf die Literatur

verwiesen sei (*11*):

$$\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = \frac{\ln \frac{R_W}{r_D}}{\ln \frac{R_{\Delta W}}{r_{\Delta D}} + 0{,}54\left\{\left(\frac{\Lambda_W}{r_{\Delta D}}\right)^2 - \left(\frac{\Lambda_W}{R_{\Delta W}}\right)^2\right\} + \frac{2{,}00\, k\, \Lambda\, C_v}{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)}\left(\frac{1}{\alpha_D r_D} + \frac{1}{\alpha_W R_W}\right)}. \tag{6}$$

Hier bedeutet R_W den Radius des Glasgefäßes, r_D den Radius des in diesem zentriert aufgespannten Drahtes. α_D und α_W sind die A.Ken. von Draht und Wand, $r_{\Delta D}$ und $R_{\Delta W}$ bezeichnen die Radien derjenigen Stellen, bis zu denen sich der Temperatursprung bemerkbar macht, sie liegen also in der Größenordnung einer mittleren freien Weglänge von der Drahtoberfläche bzw. Glasoberfläche entfernt. Genauer gilt:

$$\left.\begin{aligned} r_{\Delta D} &= r_D + \frac{2}{3}\Lambda_W\left[1 + \frac{0{,}28\left(\frac{\Lambda_W}{r_D}\right)^2 + 0{,}094\left(\frac{\Lambda_W}{r_D}\right)}{\left(\frac{\Lambda_W}{r_D}\right)^2 + \frac{1}{2}\left(\frac{\Lambda_W}{r_D}\right) + 0{,}125}\right], \\ R_{\Delta W} &= R_W - \frac{2}{3}\Lambda_W\left[1 - \frac{3}{4}\frac{\Lambda_W}{R_W} - \frac{4}{5}\left(\frac{\Lambda_W}{R_W}\right)^2\right] \end{aligned}\right\} \tag{6a}$$

mit der Abkürzung

$$\Lambda_W = \Lambda \cdot \frac{1{,}5\, k\, C_v}{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)}. \tag{6b}$$

Der Umstand, daß nicht durchweg $R_{\Delta W} = R_W - \frac{2}{3}\Lambda_W$ gilt und Entsprechendes für $r_{\Delta D}$, liegt daran, daß die mittlere freie Weglänge schon bei größeren Werten gegenüber der Krümmung der Oberfläche des Drahtes bzw. des Rohres ins Gewicht fällt. Einem ähnlichen Umstand verdankt auch das Glied mit dem Faktor 0,54 im Nenner von Gl. (6) seine Entstehung; es rührt daher, daß der Energietransport im Innern des Gases in einem Elementarakt über Strecken erfolgt, auf denen die Gesamtkrümmung des logarithmischen Temperaturverlaufs zwischen Draht und Wand schon wesentlich wird. Bei nicht zu großen Werten von Λ fällt dieses Glied nicht ins Gewicht, auch kann man von dem Term $1/\alpha_W R_W$ generell absehen, da er bei den üblichen Dimensionierungen gegenüber dem ersten Term $1/\alpha_D r_D$ vernachlässigbar ist, zumal die A.Ken. nicht viel genauer als auf 1% bekannt sind bzw. zu messen sind.

Im Falle der Benutzung eines ebenen Plattenapparates erhält man an Stelle von Gl. (6) den Ausdruck:

$$\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = \frac{1}{1 + \frac{2{,}00\, k\, \Lambda\, C_v}{C_v + \frac{R}{2}}\frac{2}{\alpha \cdot d} - \frac{4}{3}\frac{\Lambda_W}{d}}, \tag{7}$$

der sich sofort mit dem Temperatursprung aus Gl. (5b) ergibt, wenn man beachtet, daß der Temperaturabfall um $T_2 - T_1 - 2\Delta T$ im Innern

linear auf einer Strecke von $d - 2 \cdot \frac{2}{3} \Lambda_W$ erfolgt, wenn d den Plattenabstand bedeutet. Die Bezeichnung ist in Gl. (7) die gleiche wie in (6); die Terme, die in Gl. (6) von der Krümmung des Temperaturverlaufs usw. herrühren, fallen bei ebener Anordnung natürlich fort. Es ist in Gl. (7) angenommen, daß beide Platten aus dem gleichen Material bestehen, man hat sonst an Stelle von $2/\alpha$ zu setzen $\left(\frac{1}{\alpha_1} + \frac{1}{\alpha_2}\right)$.

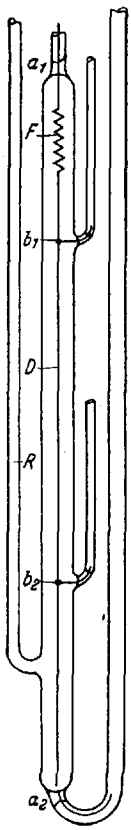


Abb. 3. Meßzelle zur Bestimmung des A.K. aus dem Temperatursprung.

Zur Ermittlung des A.K. kann man prinzipiell in beiden Fällen so vorgehen, daß man eine Entwicklung

$$\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = 1 - \left(c_1 \frac{\Lambda}{r_D} + c_2 \left(\frac{\Lambda}{r_D}\right)^2 + \cdots\right) \tag{8}$$

bzw.

$$\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = 1 - \left(f_1 \frac{\Lambda}{d} + f_2 \left(\frac{\Lambda}{d}\right)^2 + \cdots\right) \tag{8a}$$

vornimmt; sofern nun Λ/r_D bzw. Λ/d noch verhältnismäßig klein ist, darf man nach dem ersten Gliede der Entwicklung abbrechen und erhält in beiden Fällen:

$$\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = 1 - b \cdot \Lambda, \tag{8c}$$

wo b eine Größe ist, die nur von der Geometrie der Anordnung und dem A.K. abhängt und die man sogar prinzipiell eichen kann. Die Messung selbst erfolgt dann wegen $\Lambda \cdot p = \text{const}$, so daß $\frac{\lambda_p}{\lambda_\infty} = 1 - b^*/p$ gesetzt wird bzw. gegen $1/p$ aufgetragen wird, wobei man eine Gerade erhält, aus der man b^* und b entnimmt. Die Eichung gestattet dann den A.K. zu berechnen (*12*). Im Falle der Formel (6) ist hier wesentlich, daß man das Glied mit 0,54 vernachlässigen kann, wenn Λ noch relativ gering ist.

Die experimentelle Durchführung geschieht mit einer Wärmeleitfähigkeitszelle (Drahtmethode) nach EUCKEN-SCHLEIERMACHER (*7*), (*8*), wozu neuerdings Zellen der folgenden Art (Abb. 3) benutzt werden, in denen man sogar versucht, genaue Absolutwerte des Wärmeleitvermögens zu gewinnen (*13*), während es für die vorliegenden Zwecke genügt, Relativmessungen durchzuführen, weil es nur auf die Werte von λ_p/λ_∞ ankommt. In Abb. 3 bedeutet D einen dünnen Draht, der gut zentriert in einem möglichst engen Rohr mit einer Feder F aufgespannt ist. Da beim Aufheizen des Drahtes über die Heizleitung a_1, a_2 die Temperatur an den Drahtenden, wo derselbe an einem dickeren Draht angelötet ist, stärker variiert, kann man über die Sonden (ebenfalls sehr dünne Drähte) b_1 und b_2 den Spannungsabfall über den Mittelteil des

Heizdrahtes sehr genau mittels elektrischer Kompensation bestimmen. Gleichzeitige Ermittlung des Widerstandes dieses Mittelstückes gestattet, die Übertemperatur ΔT des Drahtstückes und die sekundliche Heizleistung $\Delta \dot{Q}$ zu errechnen; weil $\Delta \dot{Q}/\Delta T$ der Wärmeleitfähigkeit des durch R eingeleiteten Gases proportional ist, kann durch Eichung mit einem bekannten Gas λ gemessen werden, da der Proportionalitätsfaktor nur durch die Geometrie des Gefäßes bestimmt ist. Bei *genauer Zentrierung* von D gilt (*11*):

$$\Delta T = \frac{\Delta \dot{Q}}{2\pi \lambda L} \ln \frac{R_W}{r_D} \qquad (L = \text{Drahtlänge}), \tag{9}$$

so daß in dieser Weise sogar Absolutmessungen durchgeführt werden können.

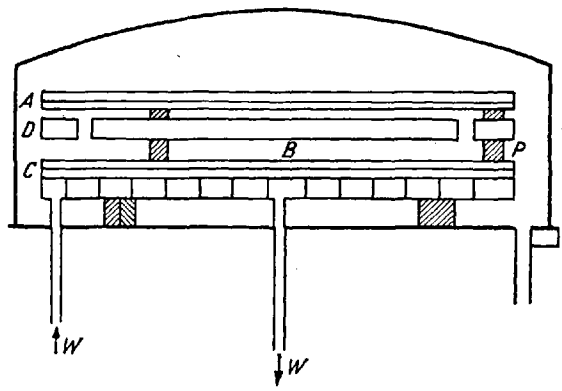


Abb. 4. Plattenapparat zur Bestimmung des Wärmeleitvermögens von Gasen.

Bei der ebenen Plattenanordnung benutzt man eine Apparatur nach Abb. 4, in der durch einen Schutzring D die Randstörungen möglichst vermieden werden. Die Platten A, B und der Schutzring D werden auf eine definierte Temperatur auf elektrischem Wege aufgeheizt — die Heizdrähte befinden sich im Innern der Platten — während die untere Platte durch eine Kühlflüssigkeit, die links bei W eintritt, durch die einzelnen eingezeichneten Kammern hindurchkreist und in der Mitte bei W austritt, auf einer tieferen Temperatur gehalten wird. Der Abstand zwischen B und C wird zweckmäßig sehr klein gehalten, damit man nicht zu außerordentlich niedrigen Drucken übergehen muß, um gut meßbare Unterschiede zwischen λ_p und λ_∞ zu erhalten. Diese Anordnung hat zwar den Vorteil, gut definierte geometrische Verhältnisse zu besitzen, in der experimentellen Handhabung ist sie aber schwerfälliger als die Drahtmethode, so daß letzterer, besonders wo es nur auf Relativwerte ankommt, hier der Vorzug gegeben werden sollte.

Neben diesen beiden Methoden, der Drahtmethode und der Plattenmethode, gibt es natürlich jedweden Übergang, z. B. in Gestalt von

größeren konzentrischen Zylindern — der dünne Draht wird also durch ein zentriertes Rohr ersetzt, dessen Durchmesser mit dem des äußeren Rohres vergleichbar ist. Diese Anordnungen bringen bei der Auswertung gewisse Schwierigkeiten mit sich, da dann die Akkommodation an der äußeren Wand im Gegensatz zur Drahtmethode ins Gewicht fällt, die Akkommodation außen und innen aber im Gegensatz zur Plattenmethode unsymmetrisch ist.

Überhaupt besitzt diese Methode, bei Drucken zu arbeiten, bei denen die mittlere freie Weglänge nicht groß, sondern nur vergleichbar mit den Gefäßdimensionen ist, ohnehin manche Nachteile, da hier ja die Größe der mittleren freien Weglänge explizit in die Endformeln zur Auswertung der Messungen eingeht; die mittlere freie Weglänge ist aber in der Gastheorie eigentlich nur ein Hilfsbegriff, der nach BOLTZMANN und MAXWELL durch die exakte Verteilungsfunktion zu ersetzen wäre (*14*). Aus diesem Grunde haben die hier angegebenen Formeln immer nur Näherungscharakter; aber auch die Benutzung der Methoden von BOLTZMANN-MAXWELL führt auf Umwegen meist nur zu Näherungsergebnissen, weil die exakte Durchführung der diesbezüglichen Berechnungen zu kompliziert wird (*15*).

Immerhin zeigt die angeführte Tabelle 1, daß die angegebenen Beziehungen (*6*) es gestatten, die Abhängigkeit der Wärmeleitfähigkeit vom Druck unter Verwendung gegebener Werte des A.K. gut wiederzugeben. Die Angaben beziehen sich auf das Wärmeleitvermögen von Argon bei 3,5° C in einer Zelle, deren Wandradius $R_W = 0{,}294$ cm betrug; der in ihr aufgespannte Draht hatte einen Radius von $2{,}08 \cdot 10^{-3}$ cm, er bestand aus Pt, dessen A.K. für Argon bei der Versuchstemperatur aus anderen Messungen — nach der im Abschnitt b dargestellten Methode — zu 0,92 angegeben wird (*6*). Die einzelnen Spalten enthalten neben dem Argument p das Verhältnis der mittleren freien Weglänge zum

Tabelle 1. *Wärmeleitfähigkeit des Argons in Abhängigkeit vom Druck bei 3,5° C nach Gl. (6) im Vergleich zu beobachteten Werten.*

p Torr)	$\frac{\Lambda}{r_D}$	$\ln \frac{R_{\Delta W}}{r_{\Delta D}}$	$0{,}54\left[\left(\frac{\Lambda_W}{r_{\Delta D}}\right)^2 - \left(\frac{\Lambda_W}{R_{\Delta W}}\right)^2\right]$	$\frac{2{,}00\, k\, \Lambda\, C_v}{\left(C_v + \frac{R}{2}\right)\left(\frac{1}{\alpha_D r_D} + \frac{1}{\alpha_W R_W}\right)}$	$\lambda \cdot 10^4$ berechnet	$\lambda \cdot 10^4$ beobachtet
593,3	0,0039	4,945	0,000	0,016	0,392	0,392
23,7	0,0971	4,764	0,027	0,398	0,374	0,373
$7{,}0_0$	0,328	4,389	0,150	1,343	0,330	0,328
$4{,}3_4$	0,529	4,145	0,239	2,168	0,297	0,296
$2{,}3_0$	0,999	3,739	0,377	4,100	0,237	0,236
$1{,}6_4$	1,401	3,475	0,448	5,750	0,201	0,199
$0{,}6_2$	3,71	2,625	0,605	15,18	0,106	0,106
$0{,}1_9$	12,1	1,36	0,70	49,78	0,038	0,046

Drahtradius und die einzelnen Terme, die für Gl. (6) maßgebend sind. Die vorletzte Spalte enthält die mit $\lambda_\infty = 0{,}392_5 \cdot 10^{-4}$ cal/Grad cm berechneten λ_p-Werte, welche von den beobachteten Werten der letzten Spalte kaum mehr als um eine Einheit in der letzten Dezimale abweichen; lediglich der letzte Wert zeigt eine ins Gewicht fallende Abweichung, die aber wahrscheinlich auf der Unsicherheit der Druckmessung beruht, denn eine Druckänderung von etwa 0,03—0,04 Torr, die durchaus im Bereiche der Meßfehler liegt, stellt die Übereinstimmung wieder her, da bei einem Druck von 0,2 Torr schon nahezu das Gebiet erreicht ist, in dem bei der benutzten Anordnung λ_p proportional zu p ist.

Dabei sei gleich bemerkt, daß die Gl. (6) bzw. (7) und damit die ganze bisherige Theorie nur allgemein gelten kann, wenn die untersuchten Gasmolekeln keine innere Energie (Schwingungsenergie) transportieren; die dabei auftretenden prinzipiellen Komplikationen wollen wir später kurz erörtern.

Außerdem kann aber die Abweichung vom idealen Gasgesetz, soweit diese auf der Bildung von Doppelmolekeln beruht, einen Beitrag zur Druckabhängigkeit des Wärmeleitvermögens liefern, der hier beim Argon als weitgehend ideales Gas, zwar vernachlässigt ist, aber oftmals bei der Auswertung nach Gl. (6) oder (7) beachtet werden muß. Bei höherem Druck bilden sich ja mehr Doppelmolekeln als bei niedrigem Druck, diese werden nun am geheizten Draht in größerem Maße dissoziieren und auf ihrem Wege zur kalten Außenwand wieder assoziieren; dadurch aber entziehen sie dem Draht mehr Wärme als beim Fehlen dieses Effektes und ergeben eine größere Wärmeleitfähigkeit. Solange die Zahl der Doppelmolekeln nicht zu groß ist, wird hierdurch ein linearer Anstieg des Wärmeleitvermögens mit dem Druck bewirkt, weil dann auch der Prozentsatz der Doppelmolekeln linear mit dem Druck zunimmt. Diese Änderung von λ_p mit p bleibt bei höheren Drucken allein übrig, so daß man diesen Anteil von den gemessenen λ_p-Werten in Abzug bringen kann, bevor man die Auswertung nach Gl. (6) oder (7) vornimmt. Ein Rückschluß aus diesem Druckanstieg des Wärmeleitvermögens auf den genauen Assoziationsgrad ist möglich (*16*), (*17*).

Hervorgehoben sei noch, daß der eben erwähnte Effekt eine tatsächliche Änderung des Wärmeleitvermögens mit dem Druck im *Innern des Gases* bedingt, während die in Gl. (6) und (7) enthaltenen Effekte durch die Apparatdimensionen hervorgerufen werden, also gewissermaßen vorgetäuschte Änderungen des Wärmeleitvermögens der *Gase* sind.

C. Ergebnisse.

a) Gesichtspunkte zur Auswertung der erhaltenen Resultate.

Es kommt uns natürlich darauf an, die mit einer der erwähnten Methoden erhaltenen Ergebnisse im Rahmen der oben (S. 63) entwickelten

Grundvorstellung zu verstehen und nicht eine Sammlung bloßer Zahlenergebnisse vorzunehmen. Nun gibt es einen auf EUCKEN (*18*), (*19*) zurückgehenden Ansatz, der es gestattet, aus dem A.K. und der Verweilzeit τ bei der Adsorption auf die Relaxationszeit β, d. i. die Zeit, in der sich die Temperaturen von adsorbierter Gasmolekel und Wand bis auf den e-ten Teil ausgleichen, zu schließen. Diese EUCKENsche Beziehung für den A.K. lautet:

$$\alpha = \frac{\tau}{\tau + \beta}. \tag{10}$$

Der in der Einleitung qualitativ erschlossene Sachverhalt, daß bei $\tau \ll \beta$ der A.K. ebenfalls klein ist, während bei $\tau \gg \beta$ der A.K. näherungsweise gleich 1 ist, ergibt sich natürlich aus Gl. (10) quantitativ mit allen Zwischenwerten des Verhältnisses von τ/β. Die Formel (10) hat einerseits zur Voraussetzung, daß die Zahl der adsorbierten Teilchen, die insgesamt die Zeit t am Draht verweilen, um dann im Zeitintervall dt wieder abzufliegen, proportional zu $e^{-t/\tau}$ ist $\left(\text{also} = \frac{N_0}{\tau} e^{-t/\tau} dt, \text{ damit die Gesamtzahl der wieder abfliegenden Teilchen} = \frac{N_0}{\tau} \int_0^\infty e^{-t/\tau} dt = N_0, \right.$ d. h. gleich der Zahl der ursprünglich anhaftenden, adsorbierten Teilchen $\left.\text{ist}\right)$. Diese Voraussetzung besagt ja nur, daß plausiblerweise die Reaktion des Wieder-Fortfliegens vom Draht eine Reaktion erster Ordnung ist. Zum andern soll der „Temperaturausgleich" einer adsorbierten Molekel mit der Wandtemperatur wie jeder Ausgleichsvorgang nach einem Exponentialgesetz verlaufen.

$$\Delta T(t) = \Delta T_0 e^{-t/\beta}, \tag{11}$$

wo β die Relaxationszeit dieses Vorgangs ist. Für die Durchschnittstemperatur der fortfliegenden Molekel erhält man dann durch Integration bzw. Mittelung den Wert:

$$T_D - T_m = \overline{\Delta T} = \frac{T_D - T_0}{N_0} \int_0^\infty e^{-t/\beta} \frac{N_0}{\tau} e^{-t/\tau} dt = (T_D - T_0) \frac{\beta}{\tau + \beta}, \tag{11a}$$

woraus man gemäß der Definition des A.K. nach Gl. (1) direkt die EUCKENsche Beziehung erhält:

$$\alpha = 1 - \frac{T_D - T_m}{T_D - T_0} = \frac{T_m - T_0}{T_D - T_0} = 1 - \frac{\beta}{\tau + \beta} = \frac{\tau}{\tau + \beta}.$$

Man erkennt so leicht, daß die Gl. (10) direkt auf die partiellen A.Ken., d. h. auf die A.Ken. der Schwingungsenergie bzw. der in einer einzelnen Normalschwingung enthaltenen Energie, angewandt werden kann. Es ist dann lediglich zu setzen $\alpha_i = \frac{\tau}{\tau + \beta_i}$, wo α_i der jeweilige

partielle A.K. der gerade betrachteten Normalschwingung oder der Durchschnittswert sämtlicher Normalschwingungen ist; für die Einstelldauer β ist dann der für die jeweilige Schwingung usw. maßgebende Wert β_i einzusetzen. Die Adsorptionszeit τ bleibt natürlich für alle partiellen A.Ken. gleich, weil die Molekel mit allen ihren Freiheitsgraden als Ganzes eine bestimmte Zeit τ im adsorbierten Zustand verweilt. Somit erhält man schließlich:

$$\frac{\beta_i}{\tau} = \frac{1}{\alpha_i} - 1 . \tag{12}$$

Weil man nun nach unseren Vorstellungen über den Mechanismus einer jeden Art von Adsorption annehmen darf, daß die Temperaturabhängigkeit von τ mit einer Aktivierungsenergie W mit konstantem τ_0 in der Form $\tau = \tau_0 \cdot e^{W/RT}$ geschrieben werden kann, und man für die Temperaturabhängigkeit von β einen gleichlautenden Ansatz machen kann $\beta = \beta_0 e^{Q/RT}$, sofern das betrachtete Temperaturintervall nicht zu groß ist — sonst muß nämlich die Temperaturabhängigkeit von W und Q noch beachtet werden —, so erhält man aus Gl. (12):

$$\log\left(\frac{1}{\alpha_i} - 1\right) = \frac{Q - W}{4{,}573\,T} + \text{const} . \tag{12a}$$

Dies ist eine Gesetzmäßigkeit, die sich leicht experimentell nachprüfen läßt; aus Gl. (12) kann dann bei bekannter Adsorptionszeit die Übergangszeit β_i direkt ermittelt werden.

Zum anderen erfordert die Begriffsbildung des partiellen A.K., daß man den gemessenen A.K. vorher auf die einzelnen Freiheitsgrade aufteilt. Entsprechend der Tatsache, daß die Energieübertragung an den Oberflächen proportional zu $\alpha\left(C_v + \frac{R}{2}\right)$ ist, wo der Term $R/2$ daher rührt, daß der Translationsanteil mit $2\,R$ anstatt mit $3/2\,R$ einzusetzen ist, hat man die Aufteilung gemäß der Formel:

$$\alpha\left(C_v + \frac{R}{2}\right) = \alpha_{\text{trans}}\, 2R + \alpha_{\text{rot}}\, C_{\text{rot}} + \alpha_{\text{schwing}} \cdot C_{\text{schwing}} \tag{13}$$

vorzunehmen, wobei man gegebenenfalls den letzten Term noch in die Beiträge der einzelnen Normalschwingungen aufteilen kann:

$$\alpha_{\text{schwing}} \cdot C_{\text{schwing}} = \sum \alpha_{s\,i}\, C_{s\,i} . \tag{13a}$$

Wir werden noch Gründe dafür anführen können, daß wenigstens bei nicht zu hohen Temperaturen und mehratomigen Molekeln die A.Ken. für Translations- und Rotationsenergie mit großer Annäherung gleich 1 gesetzt werden können, so daß die Ermittlung von α_s bei bekannter Molwärme aus α nach Gl. (13) direkt vorgenommen werden kann; lediglich die Bestimmung der α_{si} ist dann eine Aufgabe, die zunächst nicht willkürfrei durchgeführt werden kann. Hier müssen theoretische Erwägungen weiterhelfen.

b) Einatomige Gase.

α) Direkte experimentelle Resultate.

Bei einatomigen Gasen — als solche kommen praktisch nur die Edelgase in Betracht — liegen Meßergebnisse des A.K. an Pt, Wo, Ni und Glas vor. Es zeigt sich, daß mit Ausnahme des Heliums mit steigender Temperatur die A.K. abnehmen, was sich nach Gl. (12a) so verstehen läßt, daß W größer als Q ist, was als durchaus normal angesehen werden darf. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß die A.Ken. der Translationsenergie, die hier als einzige Energieform vorhanden ist, speziell bei den leichten Edelgasen, sehr klein sind (*20*), (*21*). (He und Ne an Wo 0,057 bzw. 0,07 bei Zimmertemperatur), während die Translationsenergie sonst nahezu 100%ig zu akkommodieren pflegt.

Dieser Sachverhalt legt die Vermutung nahe, daß in diesen Fällen der Mechanismus des Energieaustausches an der Wand so ist, daß längst nicht alle auf die Oberfläche aufprallenden Molekeln dort — wenn auch nur für kurze Zeit — adsorbiert werden, sondern daß ein erheblicher Prozentsatz dieser Molekeln reflektiert wird, ohne daß bei diesen ein nennenswerter Energieaustausch stattfindet; nur der mehr oder weniger geringe Prozentsatz von Molekeln, die von der Oberfläche vorübergehend festgehalten werden, kann dann gemäß Gl. (10) behandelt werden. Wir verstehen dann auch, daß beim Helium die A.Ken. mit steigender Temperatur zunehmen (an Wolfram von 0,025 bei 80° K über 0,046 bei 200° K zu 0,057 bei 300° K) (*22*). Denn bei dem großen Prozentsatz, der ohne Adsorption reflektiert wird, ist die Verweilzeit, d. h. die Stoßzeit, bei allen Temperaturen nahezu gleich ($\approx 10^{-13}$ sec), die Wechselwirkung der Gasmolekeln mit der Wand beim Stoß ist aber bei höherer Temperatur wegen der dann durchschnittlich größeren kinetischen Energie derselben weit größer als bei tiefer Temperatur, — die Gasmolekeln dringen ja viel tiefer ein, — infolgedessen ist die Übergangswahrscheinlichkeit der aufprallenden Molekeln beim Stoß in neue Energiezustände, insbesondere in solche, die der Temperatur der Oberfläche entsprechen, größer als bei tiefer Temperatur. Man kann natürlich auch jetzt von der EUCKENschen Beziehung (*10*) für diese nicht echt adsorbierten Molekeln ausgehen, indem man τ als nahezu unabhängig von der Temperatur ansieht, aber wegen der größeren Wechselwirkung bei höherer Temperatur die Übergangszeit bzw. Einstelldauer β als wesentlich kleiner ansieht als bei tiefer Temperatur. Es steht natürlich frei, diese Reflexion noch als Grenzfall mit zur Adsorption zu rechnen. Diejenigen Atome, die tatsächlich adsorbiert werden, fallen jetzt prozentual nicht nennenswert ins Gewicht.

Dabei sei noch zur Klarstellung bemerkt, daß wir unter „echter" Adsorption hier einen Übergang verstehen wollen, bei dem die aufprallende

Molekel in einen neuen Zustand überspringt, in dem die Aufenthaltswahrscheinlichkeit nur in unmittelbarer Nähe der Oberfläche merkliche Werte besitzt. Die kurze Zeitspanne, während der sich eine reflektierte Molekel in der Oberflächenzone aufhält, kann daher nicht eigentlich als Verweilzeit im adsorbierten Zustand angesprochen werden, wenngleich es manchmal vorteilhaft sein mag, diese Zeit im übertragenen Sinne als Verweilzeit an der Oberfläche oder „Adsorptionszeit" zu bezeichnen.

Wenn eine Molekel oder ein Atom einmal „echt" adsorbiert, so muß die Molekel ja, um wieder Energie von der Oberfläche wegtransportieren zu können, desorbieren, wozu die Molekel vom Krystall die Adsorptionswärme bzw. Energie zunächst einmal aufnehmen muß; dabei ist anzunehmen, daß sie im Moment des Desorptionsaktes nicht nur gerade die Energie empfängt, die zur Desorption genügt, sondern daß sie einen gewissen Überschuß an kinetischer Energie erhält, welcher der jeweiligen Temperatur der Oberfläche entsprechen wird. Damit hängt es zusammen, daß die Akkommodation der Translation normalerweise, d. h. wenn eben im allgemeinen echte Adsorption vorliegt, nahezu 100%ig ist.

Als weitere Komplikation tritt hinzu, daß die Akkommodation in vielen Fällen größer wird, wenn die Oberfläche bereits mit einer adsorbierten Gasschicht bedeckt ist (*23*). Es liegt dies wohl daran, daß die im allgemeinen leichten Gasmolekeln beim Zusammenprall mit den merklich schweren Atomen der Wand, wenn keine echte Adsorption des heranfliegenden Teilchens beim Mechanismus des Energieaustausches vorliegt, eher wie an einer „unendlich schweren" Partikel elastisch reflektiert werden als beim Aufprall auf eine dort adsorbierte leichte Gasmolekel, die viel eher Energie beim Zusammenstoß — schon nach den klassischen Stoßgesetzen — von der etwa gleich schweren stoßenden Gasmolekel aufzunehmen vermag. Dabei ist es prinzipiell gleich, ob die adsorbierten Molekeln Fremdmolekeln sind oder dieselben, deren A.K. gerade bestimmt werden soll; es ergibt sich im letzteren Fall eine zeitliche Zunahme des A.K. in dem Maße, wie mit der Zeit die Adsorption gewisser Gasteile auf der Oberfläche zunimmt (*20*).

Bezüglich der experimentellen Erfassung dieser Phänomene ist über das im Abschnitt B Gesagte lediglich zu betonen, daß die Drahtoberflächen durch intensives Ausheizen vor jedem derartigen Versuch sorgfältig von jeder adsorbierten Gasschicht zu befreien sind. Wenn man nicht gerade diese Erscheinungen zu untersuchen wünscht, insbesondere, wenn es sich etwa um die experimentelle Bestimmung von noch unbekannten Molwärmen nach der Drahtmethode handelt, so pflegt man daher die Oberflächen der benutzten Metalldrähte vor der Messung oberflächlich zu oxydieren — solche Schichten haften ja immer sehr fest —, um den A.K. möglichst noch heraufzusetzen, wenigstens bei dem Anteil von

Gasmolekeln, die nicht echt adsorbiert werden, sondern beim Aufprall ihre Energie austauschen müssen. Die A.Ken. von He und Ar an mit O_2 bedeckten Wolframoberflächen werden z. B. von 0,06 auf 0,53 bzw. 0,90 auf fast 1 heraufgesetzt. — Die Abb. 5 und 6 sowie die Tabelle 2 zeigen einige der wichtigsten neueren Ergebnisse.

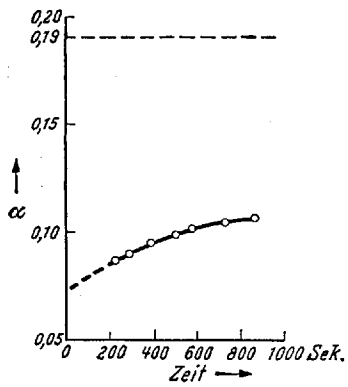


Abb. 5. Zunahme des A.K. von He an Wolfram mit der Zeit infolge Gasabsorption.

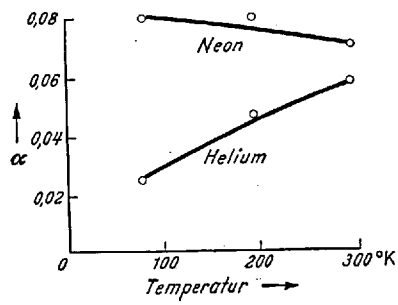


Abb. 6. A.K. einatomiger Gase in Abhängigkeit von der Temperatur.

Tabelle 2. *Akkommodationskoeffizienten von einatomigen Gasen an verschiedenen reinen und gasbedeckten Oberflächen.*

Oberflächenmaterial	Charakterisierung der Oberfläche	Temperatur °K	Gas	Akkommodationskoeffizient	Beobachter
Wo	rein	79	He	0,025	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	rein	195	He	0,046	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	rein	295	He	0,057	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	rein	79	Ne	0,08	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	rein	195	Ne	0,08	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	rein	295	Ne	0,07	ROBERTS (*20*), (*21*)
Wo	oxydiert	295	He	0,53	MICHELS (*24*)
Wo	oxydiert	295	Ar	1,00	MICHELS (*24*)
Wo	gasbedeckt	295	He	0,19	ROBERTS (*20*)
Wo	rein	295	Ar	0,82	MICHELS (*24*)
Pt	rein	295	He	0,03	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	rein	295	Ar	0,55	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	rein	295	Hg	1,00	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	gasbedeckt	295	He	0,42	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	295	Ar	0,92	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	195	Ar	0,97	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	195	Ne	0,77	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	295	Ne	0,71	EUCKEN u. PROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	195	Kr	0,99	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	295	Kr	0,94	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	gasbedeckt	195			
		295	Xe	1,00	EUCKEN u. KROME (*6*) [1]
Pt	mit H_2 bedeckt	295	He	0,24	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	mit D_2 bedeckt	295	He	0,24	MANN u. NEWELL (*25*)

[1] α_{Xe} ist hier = 1 gesetzt, darauf sind die übrigen A.Ken. von EUCKEN und KROME bezogen.

β) Theoretische Ansätze für die Akkommodation der Translationsenergie.

Für den oben erwähnten Mechanismus der Akkommodation einatomiger Gase, bei dem die Atome nicht echt adsorbiert werden, gibt es auf quantenmechanischer Grundlage Berechnungen der Übergangswahrscheinlichkeit der stoßenden Gaspartikel unter gleichzeitiger Anregung eines Quantensprungs des Krystallgitters der Oberfläche, an der sich die thermische Akkommodation vollzieht. Daraus hatte DEVONSHIRE (*26*) in Fortführung von Arbeiten, die auf LENNARD-JONES (*27*) zurückgehen, unter Annahme eines Debyeschen Schwingungsspektrums für den Festkörper (*28*) direkt den A.K. für den erwähnten Mechanismus bestimmt. Als Wechselwirkung liegt seiner Berechnung ein MORSEscher Potentialansatz (*29*) zugrunde:

$$E_{\text{pot}} = -D_0 + D_0 \left(1 - e^{-(z-Z-z_0)/\varrho}\right)^2, \tag{14}$$

wo D_0 die gesamte Dissoziationswärme (d. h. Dissoziationswärme am absoluten Nullpunkt + Nullpunktsenergie) ist, die jetzt natürlich mit der Adsorptionsenergie gleichzusetzen ist; ϱ ist eine Konstante, die die örtliche Variation der Wechselwirkungskräfte beschreibt und von der Größenordnung 10^{-8} cm ist, z und Z sind die auf der Oberfläche senkrechten Abstände des Gasatoms und des Krystallatoms. DEVONSHIRE erhält schließlich:

$$\left.\begin{aligned} \alpha &= \frac{3}{2\nu_g^3} \int_0^{\nu_g} \frac{\nu^2\, d\nu}{e^{h\nu/kT} - 1} \cdot \left(\frac{h\nu}{kT}\right)^3 \int \frac{m}{M} \frac{8\pi^4 m \varrho^2}{h^2}\, e^{-\varepsilon/kT} \cdot d\varepsilon \{\cdots\} \\ \text{wo} \quad \{\cdots\} &= \left\{ \frac{\mathfrak{Sin}\frac{4\pi^2 w \varrho}{h}\, \mathfrak{Sin}\frac{4\pi^2 w' \varrho}{h}}{\left(\mathfrak{Cof}\frac{4\pi^2 w \varrho}{h} - \mathfrak{Cof}\frac{4\pi^2 w' \varrho}{h}\right)^2} \cdot \frac{(A_w + A_{w'})^2}{A_w \cdot A_{w'}} \right. \\ \text{mit} \quad \tfrac{1}{2} m w^2 &= \varepsilon; \qquad \tfrac{1}{2} m w'^2 = \tfrac{1}{2} m w^2 + h\nu \\ A_w &= \left| \Gamma\left(-\frac{2\pi}{h} \varrho (2m D_0)^{\frac{1}{2}} + \frac{2\pi \varrho w}{h} i + \frac{1}{2}\right) \right|^2 \end{aligned}\right\} \tag{15}$$

h = PLANCKsche Konstante, k = BOLTZMANN-Konstante, $i = \sqrt{-1}$.

m und M sind dabei die Massen von Gasatom und Krystallatom, ν_g ist die Debyesche Grenzfrequenz und Γ bedeutet die Γ-Funktion.

Wegen der komplizierten Integration über den Ausdruck in der geschweiften Klammer ist das Verhalten von α nach Gl. (15) schwer zu übersehen, ja noch nicht einmal die Tatsache $\alpha \leqq 1$ ist aus Gl. (15) unmittelbar abzulesen. Nun weist LANDAU (*30*) darauf hin, daß man bei einem Wechselwirkungsansatz $E_{\text{pot}} = A \cdot e^{-(z-Z)/\varrho}$, der freilich bei positivem A nur Abstoßungskräfte enthält, solange man die Bewegung

noch einigermaßen durch die klassischen Gesetze beschreiben kann, für α erhält:

$$\alpha = \frac{3}{8} \frac{1}{m^{\frac{1}{2}} M} \left(\frac{2 h^2 \cdot T}{\pi \varrho^2 k \Theta^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad \text{wo} \quad \Theta = \frac{h \nu_g}{k}. \tag{16}$$

Wir sehen, daß sowohl nach Gl. (15) als auch nach Gl. (16) der A.K. der Translation mit M umgekehrt proportional ist, was besagt, daß bei Adsorption von leichten Atomen auf der Oberfläche die Akkommodation ansteigt, völlig im Einklang mit dem, was qualitativ auf S. 81 schon aus der klassischen Erwartung erschlossen war, und mit dem experimentellen Befunde. Es mag vielleicht verwundern, daß in Gl. (16) die Größe A des Wechselwirkungspotentials nicht mehr auftritt; dies liegt daran, daß die heranfliegende Gaspartikel sich eben nur bis auf einen bestimmten Abstand nach dem gemachten Ansatz der Oberfläche nähern kann, der von A, und der kinetischen Energie der Gasmolekel abhängt. Der Potentialverlauf zwischen diesem Umkehrpunkt und dem Unendlichen ist wegen des exponentiellen Verlaufs von E_p immer derselbe, wenn nur A größer ist als die praktisch in Betracht kommenden kinetischen Energien der Gasmolekeln.

Wie schon betont, betreffen diese in Gl. (15) und (16) enthaltenen Vorstellungen nur den Mechanismus, bei dem keine echte Adsorption an der Oberfläche stattfindet; es wäre erwünscht, wenn auch für diesen Fall Berechnungen vorlägen bzw. wenn Bestimmungen gemacht wären, welcher Prozentsatz der auftreffenden Gasmolekeln echt adsorbiert und welcher nicht adsorbiert wird, weil wir ja Grund zu der Annahme haben, daß bei echter Adsorption die Translationsenergie 100%ig akkommodiert. Es scheinen aber in der Literatur hierüber nähere Erörterungen zu fehlen; erste Ansätze finden sich jedoch bereits in den Arbeiten von LENNARD-JONES und DEVONSHIRE (*31*), (*32*).

c) Zweiatomige Molekeln. Akkommodation der Rotationsenergie.

α) Experimentelle Resultate.

Für Molekeln, die außer der Translationsenergie praktisch nur Rotationsenergie besitzen (hohe Normalfrequenzen) liegen eine Anzahl von Messungen vor, von denen einige in Tabelle 3 wiedergegeben sind. Es handelt sich vorerst darum, zu versuchen, die Akkommodationsanteile von Translation und Schwingung voneinander zu trennen.

Naheliegend ist es, Versuche an $p - H_2$ und $n - H_2$ anzustellen und die Differenz der erhaltenen A.Ken. durch verschiedene Akkommodation von Translations- und Rotationsenergie zu deuten. Dieser Versuch ist für die Akkommodation an reinem Platin von BONHOEFFER (*33*) und ROWLEY durchgeführt worden; sie deuten die Tatsache, daß der $n - H_2$ bei gleichen Temperaturen geringere A.Ken. aufweist, so, daß

Tabelle 3. *Akkommodationskoeffizienten von zweiatomigen Gasen an verschiedenen Oberflächen. (Akkommodation der Rotationsenergie.)*

Oberflächenmaterial	Charakterisierung der Oberfläche	Temperatur °K	Gas	Akkommodationskoeffizient	Beobachter
Pt	gasbedeckt	295	H_2	0,36	DICKINS (*35*)
Pt	gasbedeckt	295	CO	0,92	DICKINS (*35*)
Pt	gasbedeckt	295	O_2	0,90	DICKINS (*35*)
Pt	gasbedeckt	295	N_2	0,89	DICKINS (*35*)
Pt	gasbedeckt	295	Luft	0,90	DICKINS (*35*)
Ni	oxydiert	113	N_2	0,97	EUCKEN u. BERTRAM (*18*)
Ni	oxydiert	173	N_2	0,95	EUCKEN u. BERTRAM (*18*)
Ni	oxydiert	199	N_2	0,95	EUCKEN u. BERTRAM (*18*)
Ni	oxydiert	279	N_2	0,92	EUCKEN u. BERTRAM (*18*)
Pt	rein	109	p-H_2	0,37	ROWLEY u. BONHOEFFER (*33*)
Pt	rein	129	p-H_2	0,35	ROWLEY u. BONHOEFFER (*33*)
Pt	rein	210	p-H_2	0,27	ROWLEY u. BONHOEFFER (*33*)
Pt	rein	295	n-H_2	0,11	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	rein	295	O_2	0,42	MANN u. NEWELL (*25*)
Pt	gasbedeckt (gesättigt)	295	H_2	0,20	MANN u. NEWELL (*25*)
Wo	oxydiert	150	H_2	0,42	BLODGETT u. LANGMUIR (*36*)
Wo	oxydiert	300	H_2	0,19	BLODGETT u. LANGMUIR (*36*)
Wo	oxydiert	500	H_2	0,19	BLODGETT u. LANGMUIR (*36*)
Wo	oxydiert	700	H_2	0,20	BLODGETT u. LANGMUIR (*36*)
Wo	oxydiert	900	H_2	0,23	BLODGETT u. LANGMUIR (*36*)
Glas	glatt	295	H_2	0,25	SMOLUCHOWSKI (*37*)
Glas	glatt	295	Luft	0,74	SMOLUCHOWSKI (*37*)

die Akkommodation der Rotationsenergie zwischen 100 und 200° K geringer sei als diejenige der Translation. Da aber in diesem Temperaturgebiet die beiden Wasserstoffmodifikationen in recht unterschiedlichen Quantenzuständen der Rotation existieren, ist es fraglich, ob man die A.Ken. dieser Modifikationen so direkt miteinander vergleichen kann, um daraus die A.Ken. für Translations- und Rotationsenergie herzuleiten, indem man den gesamten A.K. aus seinen Anteilen für Translations- und Rotationsenergie einfach superponiert.

KNUDSEN (*34*) zeigt mit einer anderen Methode, daß wenigstens bei normaler Temperatur die Akkommodation von Translations- und Rotationsenergie beim Wasserstoff an Platin etwa gleich gut erfolgt. Er untersucht an einem Platinbande, das er einmal in normalem Zustande benutzt, das andere Mal aber auf einer Seite schwärzt, die thermische Akkommodation und die mechanische Rückstoßwirkung, die bei der einseitigen Schwärzung auf den beiden Seiten des Bandes natürlich verschieden ausfällt, so daß ein resultierender mechanischer Impuls auf das Band übrig bleibt, der mit Hilfe einer Drehwaage gemessen werden

konnte. Die mechanische Rückstoßwirkung ist der Differenz der partiellen A.Ken. der Translationsenergie auf der geschwärzten und der blanken Seite des Bandes proportional; aus der Geometrie der experimentellen Anordnung konnte die genannte Differenz sogar absolut bestimmt werden. Aus den entsprechenden Versuchen für die thermische Akkommodation folgte ebenso die Differenz der gesamten A.K. Da sich nun experimentell ergab, daß α_{trans} (schwarz) $-$ α_{trans} (blank) $=$ α_{gesamt} (schwarz) $-$ α_{gesamt} (blank) innerhalb der Fehlergrenze galt, so mußte eben der Schluß $\alpha_{trans} \approx \alpha_{rot}$ für den Wasserstoff an reinem Platin gezogen werden.

β) Theoretisches.

Bezüglich der Theorie der Rotationsakkommodation liegen keine besonderen Berechnungen vor. Prinzipiell hat man, ebenso wie bei der Akkommodation der Translationsenergie, zu unterscheiden zwischen einem mit echter Adsorption verbundenen Mechanismus, bei dem hohe Akkommodation zu verzeichnen ist, und einem solchen ohne Adsorption mit entsprechend geringer Akkommodation. Über das Verhältnis der beiden Mechanismen ist selbstverständlich ebensowenig bekannt wie bei einatomigen Gasen. Beim Mechanismus der echten Adsorption wird man, wie oben (S. 81), geneigt sein, auch der Akkommodation der Rotationsenergie einen in der Nähe von 1 gelegenen Wert zuzuschreiben, wenn man auch für die Akkommodation der Translationsenergie, im allgemeinen eher einen noch dichter bei 1 gelegenen Wert erwarten wird. Beim Fehlen der echten Adsorption wird eine Gasbeckung aus den gleichen Gründen wie oben auch die A.Ken. der Rotation merklich vergrößern.

Bei den in Tabelle 3 genannten Gasen wird die echte Adsorption nur eine untergeordnete Rolle spielen, so daß es hier weniger angebracht sein mag, von der EUCKENschen Beziehung Gl. (10) Gebrauch zu machen. Sinnvoller wäre dies bei schweren Gasen, wie Cl_2, Br_2 usw., die zum überwiegenden Teil adsorbiert werden; jedoch liegen gerade über diese keine Messungen des A.K. vor, was darin seinen Grund hat, daß wegen der Aggressivität dieser Gase das Arbeiten mit ihnen selbst bei den hier benötigten kleinen Drucken (Reaktionen mit Quecksilber im Manometer!) recht umständlich ist. Man wird bei diesen Gasen, die übrigens schon eine erhebliche Schwingungswärme bei normaler Temperatur besitzen, eine fast 100%ige Akkommodation von Translation und Rotation erwarten dürfen.

Der Umstand, daß das Interesse an diesen Gasen geringer gewesen sein dürfte, liegt zum großen Teil auch daran, daß Aussagen über den A.K. gleichzeitig einfache Messungen der Molwärmen des betreffenden Gases gestatten. Da nun die Molwärme dieser einfachen zweiatomigen

Gase bei normalen Temperaturen völlig unproblematisch ist, so bestand eben kein Grund, einen übertriebenen Aufwand für die Ermittlung ihrer A.Ken. auf sich zu nehmen.

Die Tatsache einer relativ hohen Akkommodation der Rotationsenergie — man denke daran, daß ja selbst beim H_2 nach KNUDSEN $\alpha_{trans} = \alpha_{rot}$ — läßt sich auch durch die Ultraschallversuche in Gasen belegen. Schickt man nämlich eine Schallwelle durch ein Gas, so wird durch die damit verbundenen adiabatischen Kompressionen und Dilatationen primär die Translationsbewegung der Gasmolekeln abwechselnd vergrößert und verringert bzw. die Temperatur erhöht und erniedrigt. Durch die molekularen Zusammenstöße muß dann auch die größere bzw. kleinere Energie auf die Freiheitsgrade der Rotation und Schwingung übertragen werden oder anders ausgedrückt, es muß sich die Temperaturänderung der Translation den anderen Freiheitsgraden mitteilen. Dieser Prozeß erfordert nun eine gewisse Zeit, da nicht von vornherein erwartet werden kann, daß bei jedem molekularen Zusammenstoß der völlige Ausgleich vollzogen wird.

Wenn nun die Kompressionen und Dilatationen sehr rasch aufeinanderfolgen (hohe Frequenz), so muß man damit rechnen, daß die Freiheitsgrade der Rotation und Schwingung den Temperaturänderungen der Translation nicht zu folgen vermögen; es wird dann die Molwärme des Gases scheinbar geringer werden, weil die Rotation und Schwingung gar nicht oder nicht mehr voll einzusetzen ist. Damit erhält man dann größere Werte für $\varkappa \equiv C_p/C_v = (C_v + R)/C_v$, und mithin auch für die Schallgeschwindigkeit $U = \sqrt{\varkappa \cdot p/\varrho}$ (ϱ = Dichte des Gases). Aus der Verfolgung der Schallgeschwindigkeit in Gasen mit steigender Frequenz, der Schalldispersion (oder auch der damit verbundenen Schallabsorption), kann jetzt ein Rückschluß gezogen werden auf die Zeit, die gebraucht wird, um den Energie- bzw. Transportausgleich zwischen der Translation und den anderen Freiheitsgraden herzustellen. Diese Zeit kann man dann auf die Zahl der Stöße umrechnen, welche eine Gasmolekel in dieser Zeitspanne erleidet. Die Versuche mit Ultraschallfrequenzen haben nun gezeigt, daß der Ausgleich zwischen Translation und Schwingung meist nur langsam vonstatten geht, also viele molekulare Zusammenstöße benötigt, während die Rotationsenergie sich mit der Translationsenergie immer so schnell ins Gleichgewicht setzt, daß von einer Verzögerung der Einstellung bislang noch nichts festzustellen war (*38*).

Obwohl natürlich die Verhältnisse beim Zusammenstoß einer Gasmolekel mit einer festen Oberfläche oder bei der Adsorption an ihr andere sein werden als beim Zusammenstoß zweier Molekeln im Gasraum, so wird man doch annehmen dürfen, daß der raschen Einstellung des Gleichgewichtes zwischen Translations- und Rotationsenergie im Gasraum eine

hohe Akkommodation der Rotationsenergie an der freien Oberfläche entspricht, zumal sich die Verhältnisse beim Zusammenstoß einer kleinen Molekel mit einer großen im Gasraum allmählich denen beim Aufprallen auf eine Wand annähern werden. Der Adsorption an der Oberfläche kann dann im Gase die Bildung einer Doppelmolekel zwischen einer kleinen und einer großen Molekel in Parallele gesetzt werden. Diese Verhältnisse sind für die Zusammenstöße der Molekeln im Gasraum bereits von ZENER (*39*) auf quantenmechanischer Grundlage durchgerechnet worden, wobei lediglich als Ergebnis konstatiert werden konnte, daß die Übergangswahrscheinlichkeit für den Übergang Translation ↔ Rotation wesentlich größer ist als diejenige für den Übergang aut die Schwingungsenergie. Die Absolutwerte der Übergangswahrscheinlichkeiten lassen sich aber aus den ZENERschen Angaben leider nicht genau entnehmen.

d) Mehratomige Gase.

α) Unmittelbare Ergebnisse.

Wenn wir uns nun den bei mehratomigen Molekeln erhaltenen Resultaten zuwenden, so können wir in der Regel uneingeschränkt von der EUCKENschen Beziehung Gl. (10) Gebrauch machen, da wir jetzt meist nur den über die echte Adsorption verlaufenden Mechanismus vor uns haben. Anscheinend wird mit der Beziehung Gl. (10) in der angelsächsischen Literatur auch neuerdings wenig gearbeitet, wir müssen uns deshalb — um die Gl. (10) auszuwerten — vornehmlich auf Untersuchungen der EUCKENschen Schule stützen.

Die Abb. 7, 8 und 9 zeigen zunächst die präzise Auswertung einiger an CS_2 (*40*) und COS (*41*) bei verschiedenen Temperaturen erhaltenen Ergebnisse des A.K. an Pt nach Gl. (12a), indem $\log\left(\frac{1}{\alpha}-1\right)$ gegen $1/T$ aufgetragen wurde. Es enthält die Abb. 7 drei Kurven für den A.K. von CS_2, bei denen einmal der gesamte A.K. benutzt wurde (α_{s+r+tr}), dann wurde nach Gl. (13) unter der Annahme $\alpha_{trans} = 1$ und $\alpha_{rot} = \alpha_{schwing}$ der partielle A.K. α_i für Rotation und Schwingung aus dem gemessenen α berechnet und als $\log\left(\frac{1}{\alpha_i}-1\right)$ aufgetragen (α_{s+r}), die dritte Kurve schließlich geht von $\alpha_i = \alpha_{schwing}$ aus, wobei $\alpha_{schwing}$ nach Gl. (13), diesmal aber unter der Annahme $\alpha_{trans} = \alpha_{rot} = 1$ ermittelt wurde (α_s). Abb. 8 und 9 enthalten die gleichen Kurven für den Fall der COS-Molekel (Abb. 8 die Kurven α_{s+r+tr} und α_{s+r} und Abb. 9 die Kurve α_s).

Man erkennt, daß die Linearität zwischen $\log\left(\frac{1}{\alpha_{schwing}}-1\right)$ und $1/T$ in allen beiden Fällen sehr gut erfüllt ist, wie es Gl. (12a) erwarten läßt. Beim COS zeigt der A.K. mit $\alpha_{schwing} = \alpha_{rot}$ in der Kurve α_{s+r} bereits bei höheren Temperaturen ein abweichendes Verhalten, von dem beim CS_2 in dem beobachteten Temperaturbereich noch nichts bemerkbar ist. Weil

CS_2 einen höheren Siedepunkt besitzt als COS, darf man diese Abweichung beim CS_2 erst bei vergleichsweise höheren Temperaturen als beim COS erwarten, die eben bei den vorliegenden Messungen des A.K. beim CS_2 noch nicht erreicht waren. Beim COS und CS_2 zeigen die gesamten A.K. (α_{s+r+tr}) beide merkliche Abweichungen von der Linearität. Man kann im Hinblick auf Gl. (10) diesen Befund so deuten, daß man die Annahme $\alpha_{trans} = \alpha_{rot} = 1$ bei den Gasen (zumindest beim COS) als

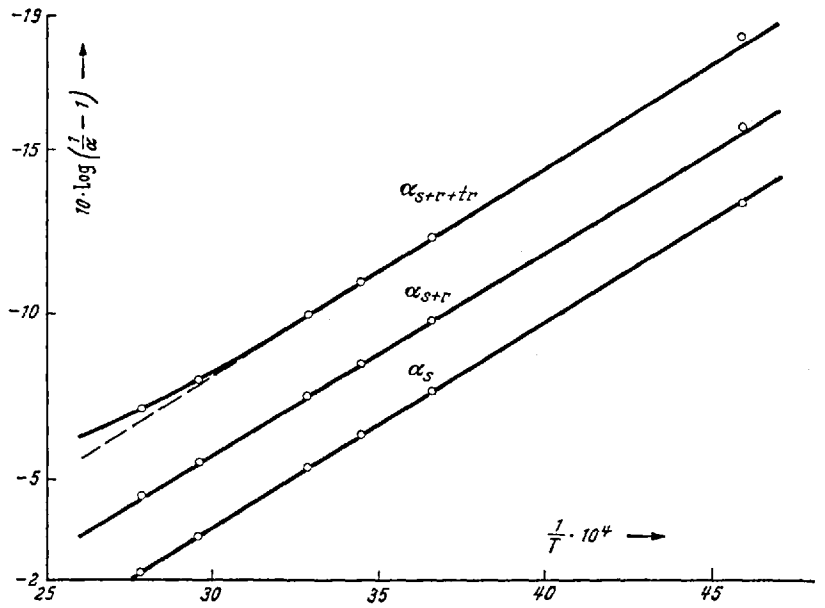


Abb. 7. A.K. von CS_2 an Platin; Gesamtakkommodation (α_{s+r+tr}). Akkommodation von Rotation und Schwingung (α_{s+r}) und Akkommodation der Schwingung (α_s).

zutreffend ansieht, obwohl diese Begründung natürlich keineswegs streng ist. Immerhin mag die gefundene Linearität ein gewisser Hinweis für das Zutreffen dieser Annahme sein.

Vom rein experimentellen Standpunkt muß noch folgendes bemerkt werden: Die Meßpunkte, die zu den tiefsten Temperaturen gehören, scheinen im allgemeinen ebenfalls von der Geraden abzuweichen; es liegt dies jedoch an der Empfindlichkeit der Geraden in diesem Gebiet gegenüber unvermeidbaren kleinen Fehlern. Wenn α_i bereits in der Nähe von 1 gelegen ist, wird $1/\alpha_i$ wenig von 1 abweichen, so daß sich $\log\left(\frac{1}{\alpha_i} - 1\right)$ stark ändert, wenn α_i sich geringfügig verschiebt, weil ja $\frac{d}{d\alpha}\left[\log\left(\frac{1}{\alpha_i} - 1\right)\right] \to \infty$, sofern $\alpha_i \to 1$. Die Meßwerte von α, die hier nach der Methode B_a und B_b erhalten wurden, sind durchweg mit einem

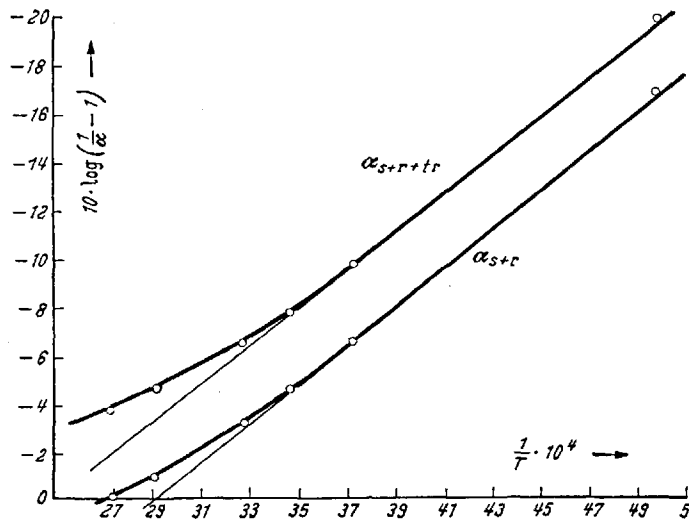


Abb. 8. A.K. von COS an Platin; Gesamtakkommodation (α_{s+r+tr}) und Akkommodation von Rotation und Schwingung (α_{s+r}).

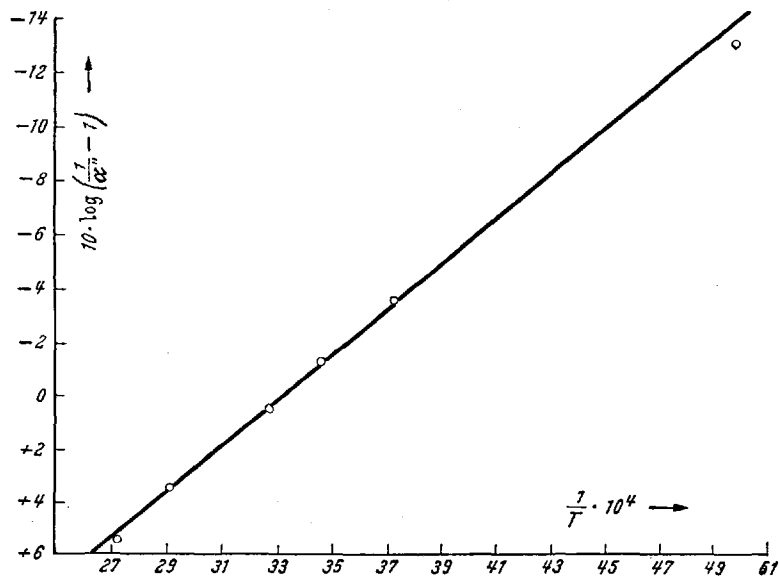


Abb. 9. A.K. der Normalschwingungen für COS an Platin.

Fehler von etwa $^1/_2$% behaftet, was noch als geringer Fehler angesehen werden darf.

Hier bei den mehratomigen Gasen können wir mit echter Adsorption an der Oberfläche rechnen, so daß wir keine wesentlichen Effekte

erwarten dürfen, wenn die Oberfläche gasbedeckt oder leicht oxydiert ist anstatt sorgfältig von sämtlichen Gasresten befreit zu sein; immerhin ist es auch jetzt, um eben α_{trans} und α_{rot} in jedem Fall in die Nähe von 1 zu bringen, oft gebräuchlich, die Oberfläche der benutzten Drähte leicht anzuoxydieren. Die Geradlinigkeit der $\left[\log\left(\frac{1}{\alpha_{schwing}} - 1\right) \Big/ \frac{1}{T}\right]$-Kurven, die in den Abb. 7 und 8 an besonders präzis ausgeführten Messungen dargetan ist, war schon früher an Hand einer großen Anzahl von Messungen

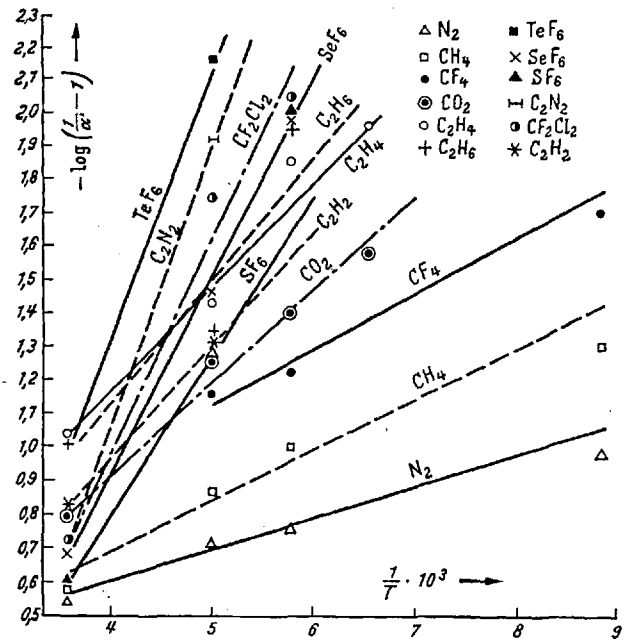


Abb. 10. A.K. $(\alpha_{r,+s})$ einiger einfacher Gase an oxydierten Nickeloberflächen.

geprüft worden, von denen Abb. 10 eine Anzahl wiedergibt, wobei es sich um die Akkommodation an oxydiertem Nickeldraht handelte (*18*). Die Streuungen um die Gerade sind in Abb. 10 größer als bei den beiden vorigen Beispielen, insbesondere fallen die zu den tiefsten Temperaturen gehörenden Meßpunkte aus den angegebenen Gründen stärker heraus, zumal hier auch ein größeres Temperaturgebiet überstrichen wird.

β) Die Akkommodation von Translations- und Rotationsenergie mehratomiger Molekeln.

Wir wollen jetzt für die Tatsache, daß bei mehratomigen Molekeln, bei denen der Akkommodationsmechanismus über die echte Adsorption nerläuft, die Akkommodation von Translations- und Rotationsenergie nahezu 100%ig erfolgt, noch andere experimentelle Gründe anführen.

Wir benutzen dazu die Bestimmungen des Wärmeleitvermögens bei Drucken von wenigen Millimeter Hg bis zu einigen Zehntel Torr hinunter in Verbindung mit den Ergebnissen der Dispersionsversuche bei Ultraschallfrequenzen, von denen oben schon kurz berichtet wurde. In diesem Druckgebiet wird das Wärmeleitvermögen im wesentlichen durch den Temperatursprung bedingt, aber der genaue Wert des Wärmeleitvermögens hängt auch noch davon ab, wie Translations- und Schwingungsenergie untereinander im Gase zwischen warmer und kalter Wand ausgetauscht werden können.

Weil dieser Austausch — wie schon oben (S. 87) angedeutet wurde — recht langsam vonstatten geht, d. h. viele molekulare Stöße erfordert, so muß man den Transport von Translations- und Rotationsenergie von demjenigen der Schwingungsenergie im Gase trennen. Die innere Energie (Schwingungsenergie) wird dann im wesentlichen durch Diffusion der zu höheren Schwingungen angeregten Molekeln von warm nach kalt transportiert. Die äußeren Energiefreiheitsgrade (Translation und Rotation) tauschen sich leichter aus und werden dadurch rascher weitergeleitet, was schon an dem größeren Verhältnis von $\frac{\lambda M}{C_v \eta} = k$ (S. 72) der einatomigen und zweiatomigen Molekeln gegenüber dem bei mehratomigen mit erheblicher Schwingungsenergie zum Ausdruck kommt. Wenn ein Austausch zwischen den beiden Energieformen im Innern des Gases vollkommen unterbunden wäre, so würde man einfach mit zwei unabhängig voneinander erfolgenden Anteilen des gesamten Energietransports rechnen, einen für den Transport von $E_{\text{trans}+\text{rot}}$ und einen für den von E_{schwing}; dies ist im Gase jedoch nur dann zulässig, wenn der Druck so gering ist, daß die von der warmen Wand auf die kalte zu wandernden Partikeln wahrscheinlich keinen wirksamen molekularen Zusammenstoß mehr erleiden, bei dem die Energieformen ausgetauscht werden können.

Bei den etwas höheren Drucken muß der Austausch berücksichtigt werden. In dem Gebiete, das dann noch durch den Temperatursprung an den Wänden wesentlich beeinflußt wird, kommt es nun sehr auf das Verhältnis des A.K. von Translation und Rotation zu demjenigen der inneren Schwingung an, denn es besteht nun die Möglichkeit, daß die Molekeln an der warmen Wand äußere Energie aufnehmen (akkommodieren), diese aber schon in der Nähe der Wand in Gestalt innerer Energie an eine andere Molekel abgeben und wieder an die warme Wand zurückkehren, um dort neue Energie aufzunehmen. Es kann ebenso das Umgekehrte eintreten, daß innere Energie primär aufgenommen wird, die dann auch in Gestalt von Translationsenergie abgegeben und rasch weitergeleitet wird, während die erste Molekel wieder neue Schwingungsenergie an der warmen Wand aufzunehmen vermag. Das Aufnahmeverhältnis der einen und der anderen Energieform an der warmen Wand

wird offensichtlich durch den Bruch

$$\frac{\left(C_{v\ddot{a}} + \frac{R}{2}\right)\alpha_{\text{trans + rot}}}{C_s \cdot \alpha_{\text{schwing}}} \tag{17}$$

gemessen, wo $C_{v\ddot{a}} = C_{\text{trans}} + C_{\text{rot}}$ ist. Ist nun der Bruch in (17) wesentlich verschieden von dem Verhältnis der getrennten Wärmeleitfähigkeiten für die Translations- und Rotationsenergie $\lambda_{\ddot{a}}$ einerseits zu der für die innere Energie λ_i andererseits, so wird durch den bei hohen Drucken vorhandenen Austausch zwischen beiden Energieformen das Wärmeleitvermögen nur heraufgesetzt, weil sich die Natur dann immer den Weg aufsucht, bei dem der warmen Wand die meiste Energie entzogen wird.

Die partiellen Wärmeleitfähigkeiten $\lambda_{\ddot{a}}$ und λ_i ergeben sich aus der mittleren freien Weglänge gemäß (*11*)

$$\lambda_{\ddot{a}} = \frac{1}{3} \Lambda_{W\ddot{a}} \frac{{}^1N}{N_L} \overline{w} \left(C_{v\ddot{a}} + \frac{R}{2}\right); \qquad \lambda_i = \frac{1}{3} \Lambda_{Wi} \frac{{}^1N}{N_L} \overline{w}\, C_s \tag{18}$$

mit

$$\Lambda_{W\ddot{a}} = \Lambda \frac{1{,}5\, k_{\ddot{a}}\, C_{v\ddot{a}}}{C_{v\ddot{a}} + \frac{R}{2}}; \qquad \Lambda_{Wi} = 1{,}5\, \Lambda \tag{18a}$$

wo $k_{\ddot{a}} = 1{,}75$ oder 1,90 ist, je nachdem, ob die Molekel gewinkelt oder gestreckt ist. Die Beziehungen in Gl. (18a) entsprechen völlig der Gl. (6b), wenn man die Aufteilung sinngemäß vornimmt.

Die quantitative Berechnung des Einflusses des Effektes des gehemmten Energieaustausches zwischen Translation und Schwingung erfordert die Einführung eines gesonderten Temperaturverlaufs von Translations- und Schwingungsenergie zwischen warmer und kalter Wand. Zwischen diesen Temperaturen $T_{\ddot{a}}$ und T_i besteht dann ein zeitlicher Ausgleich entsprechend

$$\frac{\partial T_i}{\partial t} = \frac{1}{\beta} (T_{\ddot{a}} - T_i) \tag{19}$$

wobei β als Einstellzeit der Stoßzahl je Zeiteinheit — oder dem Druck — umgekehrt proportional ist. Der Proportionalitätsfaktor ergibt sich aus den Ultraschallversuchen im gleichen Gase. Wegen weiterer Einzelheiten der Durchführung sei auf die Originalarbeiten verwiesen. Von UBBELOHDE (*42*) ist die Berechnung für die ebene Plattenanordnung durchgeführt, aber nicht experimentell ausgeführt worden; von K. SCHÄFER, W. RATING und A. EUCKEN (*11*) stammt die gleiche Berechnung für die Anordnung mit dem zentrierten Draht, zu welcher auch ausgewertete Messungen an CO_2 (*11*) und COS (*43*) vorliegen.

Da wir wegen der Weitläufigkeit der Berechnung dieses Effektes auf ihre nähere Wiedergabe verzichten müssen, sei es gestattet, diesen Effekt an einem alltäglichen Beispiel etwas näher zu illustrieren, um ihn anschaulicher zu machen. Wenn zwei Personen aus einem größeren Lager Waren erhalten wollen, von denen die eine

Person dank guter Kenntnis des Lagerverwalters leicht größere Warenmengen, auch im Hinblick auf seinen Bedarf, bei *einem* Besuch erhalten kann (dies entspricht einer guten Akkommodation), während der andere nur mit einer mäßigen Befriedigung seines Bedarfs rechnen kann (kleiner A.K.), so wird der Lagerbestand stärker erniedrigt (dies entspricht einem größeren Energieentzug oder großer Wärmeleitfähigkeit), wenn dank eines guten Warenaustauschs zwischen den beiden Personen, diejenige mit der größeren Akkommodation der andern rasch Waren abgibt. Das Gegenteil ist bei schlechtem Warenaustausch zwischen den beiden Personen der Fall. Wenn beide Personen entsprechend ihrem Bedarf gleich gut beliefert werden,

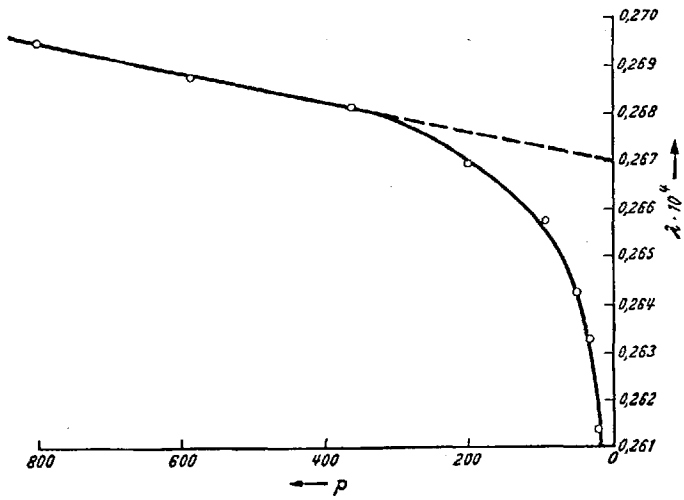


Abb. 11. Druckabhängigkeit des Wärmeleitvermögens von COS (293° K) zwischen $p = 0$ und $p = 1$ (Atm.). Linearer Anstieg bei höherem Druck.

so spielt die Frage des raschen Warenaustausches zwischen beiden offenbar nur eine untergeordnete Rolle, so daß dann auch in unserem physikalischen Problem der mehr oder weniger gehemmte Austausch keinen merklichen Einfluß auf das Wärmeleitvermögen bei niedrigen Drucken hat.

Dem normalen Bedarfsverhältnis der Personen entspricht physikalisch das Verhältnis $\lambda_{\ddot{a}}/\lambda_i$, während der tatsächlichen Befriedigung beider das Verhältnis in (17) entspricht, so daß der Effekt des gehemmten Austausches mit sich ändern-dem Druck um so stärker ins Gewicht fällt, je mehr sich die beiden Brüche

$$\frac{\left(C_{v\ddot{a}}+\frac{R}{2}\right)\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}}{C_s\cdot\alpha_{\text{schwing}}} \quad \text{und} \quad \frac{\lambda_{\ddot{a}}}{\lambda_i} \tag{20}$$

voneinander unterscheiden. Aus der Untersuchung der Änderung des Wärmeleitvermögens mit dem Druck kann daher auf den Unterschied der beiden Brüche in Gl. (20) geschlossen werden, woraus man, da $\lambda_{\ddot{a}}/\lambda_i$ als bekannt angesehen werden kann [Gl. (18) u. (18a)], $\left(C_{v\ddot{a}}+\frac{R}{2}\right)\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}/C_s\cdot\alpha_{\text{schwing}}$ und somit auch $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}/\alpha_{\text{schwing}}$ berechnen kann, sofern die Molwärme bekannt ist, was wir voraussetzen können. Weil nun eine Summe der partiellen α_i-Werte nach Gl. (13) durch Ermittlung des gesamten A.K. bekannt ist, so hat man nun zwei Gleichungen zur Berechnung von $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}$ und α_{schwing} einzeln.

Die beiden Abb. 11 und 12 zeigen den Verlauf des Wärmeleitvermögens von COS bei 20° C in einer Glasapparatur mit zentriertem Draht ($r_D = 2{,}15 \cdot 10^{-3}$ cm; $R_W = 0{,}230$ cm) in Abhängigkeit vom Druck (*43*). Man erkennt einerseits den charakteristischen Druckabfall bei kleinen Drucken, es bleibt aber bei höheren Drucken noch ein linearer Anstieg mit steigendem Druck übrig, der von der Bildung von Doppelmolekeln herrührt (S. 77). Bevor man die Auswertung zur Ermittlung von $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}$ vornimmt, muß also dieser von der Doppelmolekelbildung herrührende Beitrag in Abzug gebracht werden. Die Auswertung mit der Relaxationszeit $\beta = 1{,}67 \cdot 10^{-6}$ sec $760/p$, entsprechend den Ultraschallversuchen von EUCKEN und AYBAR (*44*), ergab dann innerhalb der Fehlergrenze den Wert 1 für den partiellen A.K. $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}$. Das gleiche Ergebnis wurde für CO_2 bei 4° C erhalten (*11*).

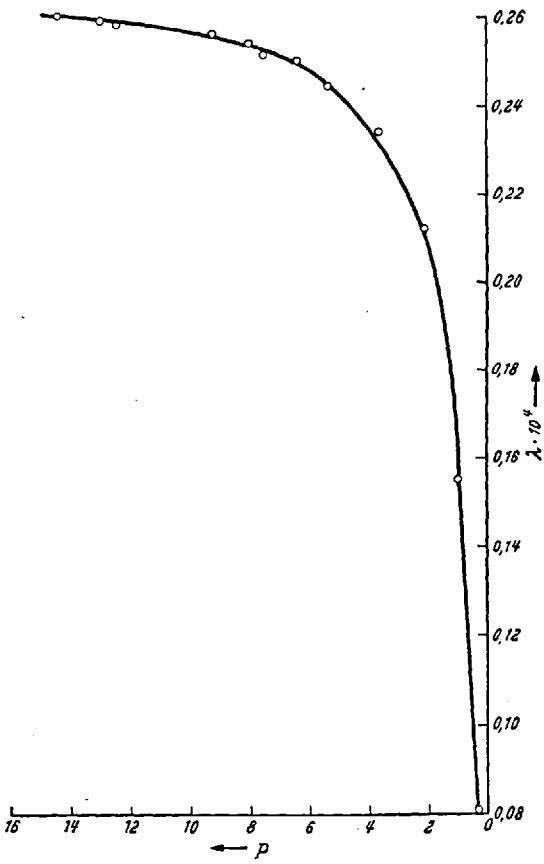


Abb. 12. Druckabhängigkeit des Wärmeleitvermögens von COS im Gebiete weniger Torr (Druckabfall).

Die Tabelle 4, welche Auszüge aus der Durchführung der Berechnung für COS enthält, gestattet abzuschätzen, wie genau die Ermittlung für α_{schwing} vorgenommen werden kann. Die Tabelle ist so angelegt, daß sie neben dem Druck und dem Verhältnis der mittleren freien Weglänge Λ zum Drahtradius r_D, die unter der Annahme $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}} = 1$ mit passenden Werten von α_{schwing} berechneten Wärmeleitfähigkeitswerte λ_{ber} neben den tatsächlich gemessenen Werten λ_{beob} enthält. Man erkennt deutlich, daß die mit $\alpha_{\text{schwing}} = 0{,}63$ berechneten Werte den gemessenen in dem eigentlich interessierenden Druckgebiet sehr viel näherkommen als die mit $\alpha_{\text{schwing}} = 0{,}61$ berechneten. (Mit Ausnahme des letzten Wertes, aber man braucht

Tabelle 4. *Vergleich der mit verschiedenen Werten für* α_{schwing} *bei Annahme von* $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}} = 1$ *berechneten Wärmeleitfähigkeitswerte von COS mit der Erfahrung.*

p (Torr)	Λ/r_D	$\lambda \cdot 10^4$ berechnet $\alpha_{\text{schwing}} = 0{,}63$	$\lambda \cdot 10^4$ beobachtet cal/cm grad sec	$\lambda \cdot 10^4$ berechnet $\alpha_{\text{schwing}} = 0{,}61$
803,0	0,0013	0,2668	$0{,}267_0$	0,2668
$19{,}9_4$	0,0542	0,2608	$0{,}261_3$	0,2612
$6{,}5_4$	0,165	0,2494	$0{,}249_9$	0,2511
$3{,}7_1$	0,291	0,2351	$0{,}234_2$	0,2369
$0{,}8_6$	1,26	0,1578	$0{,}155_6$	0,1608
$0{,}2_8$	3,86	0,0793	$0{,}081_7$	0,0822

hier wieder wie in Tabelle 1 nur zu beachten, daß bei einer geringfügigen Änderung des Druckes, nämlich von 0,01 mm Hg, was durchaus im Rahmen der Meßfehler liegt, die Übereinstimmung mit dem gemäß $\alpha_{\text{schwing}} = 0{,}63$ berechneten Wert wiedererreicht wird.) Man wird an Hand der Tabelle 4 mithin bei $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}} = 1$ mit einem α_{schwing}-Wert rechnen dürfen, der nur unwesentlich höher als 0,63, gelegen ist. Man würde dann einen gesamten A.K. gemäß Gl. (13) erhalten, der bei 0,88 gelegen ist, was dem von STROHMEIER (*41*) nach der auf S. 65/66 genannten Methode gemessenen Wert von 0,86—0,87 nahezu entspricht: Genau wird man demnach einen Wert von 0,99 für $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}}$ erwarten, da aber die Oberflächen der für die beiden Meßreihen benutzten Platindrähte etwas verschieden sein können, so dürfen wir ohnehin nicht mehr als eine Übereinstimmung bis auf eine Einheit der letzten Stelle erwarten.

Darum darf wohl das Ergebnis festgehalten werden, daß bei mehratomigen Molekeln mit dem Mechanismus echter Adsorption die Akkommodation von Translations- und Rotationsbewegung nahezu 100%ig ist. Dies Resultat, das hier für die Akkommodation an Platindrähten erhalten wurde, dürfen wir wohl auch an anderen Materialien als zutreffend ansehen.

Wir sehen hier, daß die Auswertung von Messungen für den A.K. nach der Methode B_c unter Verwendung der Gln. (6) bis (8) für Gase mit Schwingungsenergie wegen der Komplikation durch den gehemmten Energieaustausch zwischen Translation und Schwingung nicht unbedingt zuverlässige Werte des gesamten A.K. liefern muß. Wenn freilich die beiden in Gl. (20) aufgeführten Verhältnisse einander gleich sind, so macht sich diese Hemmung nicht in einem besonderen Anteil des Druckabfalls des Wärmeleitvermögens bemerkbar, aber man kann natürlich niemals von vornherein wissen, ob die Gleichheit der beiden Verhältnisse tatsächlich gegeben ist. Außerdem ist diese Gleichheit mehr zufälliger Natur, insofern diese eventuell bei einer Temperatur gegeben sein mag, während sie bei anderen Temperaturen nicht mehr zutrifft.

Diesen Umstand muß man auch bei der Beurteilung der Meßergebnisse von GRILLY, TAYLOR und JOHNSTON (*45*) beachten, welche

die A.Ken. von einatomigen und einigen einfachen mehratomigen Gasen zwischen 80° K und 380° K nach der Methode B_e ermittelten und ausdrücklich ohne die Berücksichtigung des gehemmten Austausches zwischen Translation und Schwingung auswerteten, weil auch so nach den für Gase ohne Schwingungsenergie abgeleiteten Gleichungen — s. Gl. (6) bis (8) — Ergebnisse für die A.Ken. gefunden wurden. Die von diesen Autoren erhaltenen A.Ken. streuen aber einerseits sehr stark, zum anderen besitzen sie einen abnormen Temperaturverlauf, indem sie nach tiefen Temperaturen hin zunächst zunehmen, was durchaus normal ist, um dann bei den tiefsten Temperaturen sehr kleine Werte anzunehmen, was hier, wo es sich — zumal bei den Temperaturen um 80° K — um die echte Adsorption handeln sollte, sehr überraschend wirkt und mit anderweitigen Erfahrungen an mehratomigen Gasen im Widerspruch steht.

Im Hinblick auf die Gln. (13) und (13a) würde nun noch die Aufteilung der Akkommodation der gesamten Schwingungsenergie auf die einzelnen Normalschwingungen von Bedeutung sein. Für diese Aufteilung lassen sich — soweit unsere heutige Kenntnis reicht — nicht ähnliche auf direkten Experimenten fassende Argumente angegeben, wie eben bei der Bestimmung von $\alpha_{\text{trans+rot}}$. Wir sind in der Beziehung viel stärker auf theoretische Überlegungen angewiesen als bisher. Man kann dann lediglich aus der gemessenen Temperaturabhängigkeit von α_{schwing} noch eine Bestätigung der theoretischen Rückschlüsse auf die einzelnen α_{s_i}-Werte erhalten. Denn mit variierender Temperatur wird der gegenseitige Beitrag der einen und der anderen Normalschwingung zum Gesamtwert von α_{schwing} in ihrem gegenseitigen Verhältnis geändert. Wenn man nun aus theoretischen Erwägungen wenigstens ungefähre Anhalte dafür hat, wie sich diese Beiträge zueinander verhalten werden, so muß man, da ja die Molwärmeanteile der einzelnen Normalschwingungen sich mit der Temperatur recht verschieden ändern, in einer exakten Wiedergabe des Temperaturverlaufs von α_{schwing} bzw. des gesamten A.K. einen einigermaßen zuverlässigen Hinweis dafür sehen, daß die theoretischen Überlegungen für die partiellen A.Ken. der einzelnen Normalschwingungen wenigstens der ungefähren Größe nach zutreffen. Wesentlich wird für die theoretische Behandlung auch dann immer die Beziehung Gl. (10) bzw. (12) sein.

γ) Die Ermittlung der Einstelldauern β aus Akkommodation und Adsorption.

Im Anschluß an Gl. (10) wäre nun noch die Bestimmung der Einstelldauer β von Interesse; wo jetzt die Akkommodation der Translations- und Rotationsenergie nahezu vollständig ist, so werden wir zweckmäßig β gleich auf die Einstelldauer der molekularen Schwingungen beziehen,

also von der Form $\alpha_{\text{schwing}} = \frac{\tau}{\tau + \beta_{\text{schwing}}}$ ausgehen. Die Adsorptionszeit τ ergibt sich dabei aus der Adsorptionsisotherme. Wenn c die je Oberflächeneinheit im Gleichgewicht adsorbierte Anzahl von Molen des untersuchten Gases bedeutet, so ist $\frac{c}{\tau} \cdot e^0 \cdot dt$ gemäß S. 78 die Zahl der Mole, die in der Zeit dt von diesen sofort wieder von der Oberflächeneinheit abdampfen. Diese Zahl muß nun gleich derjenigen Zahl von Molekeln sein, die je Zeitelement dt auf die Oberfläche aufprallen und adsorbiert werden; diese ist jetzt, wo praktisch alle aufprallenden Molekeln adsorbiert werden, nach dem bei Gl. (2) Bemerkten gleich $\frac{p}{\sqrt{2\pi MRT}} \cdot dt$; so daß also für τ erhalten wird

$$\tau = \frac{c}{p}\sqrt{2\pi M R T}. \tag{21}$$

Wenn die Adsorption in einem Druckgebiet untersucht wird, in dem c bereits einen beträchtlichen Teil der Sättigungskonzentration c_∞ ausmacht, so ist die rechte Seite von Gl. (21) noch mit $\frac{c_\infty}{c_\infty - c}$ zu multiplizieren, weil ja nur diejenigen der aufprallenden Teilchen adsorbiert werden können, die auf die noch unbesetzte Oberfläche zufliegen, diese aber den Bruchteil $\left(\frac{(c_\infty - c)}{c_\infty}\right)$ der gesamten Oberfläche ausmacht.

Es ist hier nicht der Platz, um weitere experimentelle Einzelheiten der Bestimmung der Adsorptionsisothermen anzugeben, eine Bestimmung, die übrigens unter geringer experimenteller Variation mit der oben (Abb. 1) angegebenen Apparatur leicht durchgeführt werden kann; es sei vielmehr auf die Originalarbeiten verwiesen (*46*).

Einige typische Ergebnisse finden wir in Tabelle 5, die neben der Adsorptionszeit die nach Gl. (10) über den A.K. ermittelte Einstellzeit β enthält. Diese ist, wie man sieht, von Gas zu Gas von recht unterschiedlicher Größe. In allen Fällen ist die Einstellzeit β_s von der gleichen Größenordnung wie die Adsorptionszeit τ, was formal natürlich daran liegt, daß bei α_{schwing}-Werten von der Größenordnung 0,1 bis 0,9, die meist vorliegen, nach Gl. (10) τ und β_s von der gleichen Größenordnung sein müssen. Dieser Tatbestand ist eigentlich überraschend, weil man bei kurzer Adsorptionszeit auf eine nur verhältnismäßig geringe Wechselwirkung mit der Oberfläche zu schließen pflegt; bei geringer Wechselwirkung erwartet man aber wieder eine langsame Einstellung des Gleichgewichtes, also große Relaxationszeiten β_s, weil ja beim völligen Fehlen jeder Wechselwirkung gar kein Energieaustausch stattfindet, die Relaxationszeit also unendlich groß wird. Die Erklärung für das gegenteilige Verhalten der angegebenen Gase kann man offenbar darin erblicken, daß die einzelnen Normalschwingungen sehr unterschiedliche Einstell-

Tabelle 5. *Zusammenstellung einiger Ergebnisse der Bestimmung von Verweil- und Relaxationszeiten an Oberflächen.*

Oberflächenmaterial	Charakterisierung der Oberfläche	Gas	Temperatur °K	$\alpha_{schwing}$	Verweilzeit (sec) τ	Relaxationszeit (sec) β	Beobachter
Pt	gasbedeckt	COS	195	0,96	$140 \cdot 10^{-6}$	$5{,}8 \cdot 10^{-6}$	STROHMEIER (41)
Pt	gasbedeckt	COS	250	0,78	$13{,}8 \cdot 10^{-6}$	$3{,}9 \cdot 10^{-6}$	
Pt	gasbedeckt	COS	273	0,66	$5{,}2 \cdot 10^{-6}$	$2{,}7 \cdot 10^{-6}$	
Pt	gasbedeckt	COS	299	$0{,}50_5$	$2{,}4 \cdot 10^{-6}$	$2{,}3 \cdot 10^{-6}$	
Pt	gasbedeckt	CS_2	243	0,92	$8{,}3 \cdot 10^{-5}$	$7{,}2 \cdot 10^{-6}$	GRAU (40)
Pt	gasbedeckt	CS_2	273	0,85	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$6{,}4 \cdot 10^{-6}$	
Pt	gasbedeckt	CS_2	304	0,77	$1{,}3 \cdot 10^{-5}$	$3{,}9 \cdot 10^{-6}$	
Pt	gasbedeckt	CS_2	313	0,75	$0{,}8 \cdot 10^{-5}$	$2{,}7 \cdot 10^{-6}$	
Ni	oxydiert	C_2H_6	195	0,98	$2{,}7 \cdot 10^{-7}$	$6{,}0 \cdot 10^{-9}$	HUNSMANN* (47)
Ni	oxydiert	C_2H_6	221	0,95	$7{,}4 \cdot 10^{-8}$	$3{,}7 \cdot 10^{-9}$	
Ni	oxydiert	C_2H_6	281	0,85	$1{,}2 \cdot 10^{-8}$	$2{,}0 \cdot 10^{-9}$	
Ni	oxydiert	C_2H_6	380	0,66	$1{,}8 \cdot 10^{-9}$	$1{,}0 \cdot 10^{-9}$	
SiO_2-Glas	gasbedeckt	C_2H_6	170	0,999	$2{,}2 \cdot 10^{-7}$	$1{,}5 \cdot 10^{-10}$	HUNSMANN* (47)
SiO_2-Glas	gasbedeckt	C_2H_6	195	0,997	$1{,}9 \cdot 10^{-8}$	$5{,}4 \cdot 10^{-11}$	
SiO_2-Glas	gasbedeckt	C_2H_6	286	0,93	$7{,}6 \cdot 10^{-11}$	$6{,}0 \cdot 10^{-12}$	
SiO_2-Glas	gasbedeckt	C_2H_6	380	0,69	$4{,}2 \cdot 10^{-12}$	$1{,}8 \cdot 10^{-12}$	

* Bei diesen Versuchen ist nur $\alpha_{trans} = 1$, aber $\alpha_{rot} = \alpha_{schwing}$ gesetzt.

zeiten aufweisen. Bei kurzer Verweilzeit werden eben nur diejenigen Normalschwingungen nennenswert akkommodieren, die selbst eine kurze Relaxationszeit besitzen; während bei längeren Adsorptionszeiten auch die langsamer akkommodierenden Normalschwingungen sich im merklichen Betrage dem thermischen Gleichgewicht angleichen werden. So kommt es schließlich, daß in beiden Fällen die *pauschalen* β_s-Werte für die Gesamtschwingungsenergie von der Größenordnung der Verweilzeiten werden.

Nach den Angaben der Tabelle 5 kann man nicht mehr die früher (*48*) erörterte Behauptung aufrecht erhalten, daß die Relaxationszeiten der an Oberflächen adsorbierten Gasmolekeln entsprechend dem Dichteverhältnis von Gasen unter Normalbedingungen zu dem der festen Körper etwa 10^3mal kleiner seien als die in Gasen mittels der Ultraschall-Dispersionsversuche erhaltenen Relaxationszeiten. Diese Bemerkung mag wohl bei den HUNSMANNschen Beobachtungen zufällig zutreffen, nicht aber bei den Versuchen an COS und CS_2, wo die Ultraschall-Relaxationszeiten etwa ebenso groß sind wie diejenigen der thermischen Akkommodation an Oberflächen. Es handelt sich jetzt ja auch um einen anderen Mechanismus, weil die Schwingungsquanten des Krystalls auf die Normalschwingungen der an der Oberfläche adsorbierten Gasmolekeln übertragen werden sollen, während es im Ultraschall-Dispersionsgebiet auf die Übertragung der Schwingungsquanten der Normalschwingungen von Gasmolekeln auf die Translationsbewegung anderer

Molekeln ankommt. Daß prinzipiell Rotationsenergie leichter ausgetauscht wird als Schwingungsenergie, braucht hierdurch natürlich in keiner Weise betroffen zu werden.

Die Beziehung Gl. (10), welche die Grundlage unserer Überlegungen bildete, legt die Vermutung nahe, daß diejenigen Stellen der Oberfläche, welche die Gasmolekeln länger festhalten — und wir müssen natürlich die Existenz verschieden stark wirksamer Adsorptionsstellen an einer Oberfläche in Erwägung ziehen — auch einen besonders hohen Beitrag zur Akkommodation liefern. Dies ist jedoch nur mit einer gewissen Einschränkung der Fall. Wenn nämlich das Adsorptionszentrum an der Oberfläche im Verhältnis zu anderen Stellen eine extrem lange Verweilzeit aufweist, so kann sich dies insofern ungünstig auswirken, als diese Stelle dafür seltener in den Mechanismus des Energieaustausches eingreift. Sollte nämlich der Adsorptionsprozeß an diesen Stellen so extrem lange dauern, daß die Molekeln, die an anderen Stellen adsorbiert werden und dort ihre Energie austauschen, innerhalb dieser Zeit bereits wieder mit der kalten Wand zusammenstoßen und von dort zurückkehren, bevor die stark adsorbierte Molekel wieder von der Oberfläche fortflog, so tragen die an den normalen Stellen adsorbierten Molekeln im Endeffekt zum Wärmetransport von warm nach kalt mehr bei als die extrem stark adsorbierten Teilchen.

Sofern die Adsorptionszeit nicht schon in die Größenordnung der Zeit fällt, welche die Gasmolekeln benötigen, um den Weg zwischen den Wänden zurückzulegen, macht sich diese Komplikation nicht bemerkbar, wenn man im wesentlichen nur Änderungen der Verweilzeit an der einen und der anderen Adsorptionsstelle um einen geringfügigen Faktor (~ 10) in Betracht ziehen muß; anders wird dies aber, wenn an einigen Stellen die normale physikalische Adsorption in eine chemische oder aktivierte Adsorption übergeht, weil an diesen Stellen dann größenordnungsmäßig längere Verweilzeiten auftreten. Für den Energieaustausch ist es dann günstiger, wenn man zunächst dafür sorgt, daß diese extrem stark adsorbierten Stellen besetzt sind, dann haben die restlichen Gasmolekeln Gelegenheit, rascher Energie auszutauschen, oft auch dann, wenn sie an die Stelle auftreffen, an der sich eine solche stärker adsorbierte Molekel befindet. Diese Effekte mögen mit den Grund dafür geben, daß bei den Messungen der A.Ken. von Gasen einerseits, wenn man ursprünglich von sehr gut entgasten Oberflächen ausging, die Werte der A.Ken. zeitlich ansteigen (Abb. 5), weil ja im Laufe der Zeit die betreffenden Adsorptionszentren allmählich belegt werden, andererseits gasbedeckte oder oxydierte Oberflächen höhere A.Ken. aufweisen als sorgfältig entgaste Oberflächen. Dies gilt natürlich prinzipiell ebenso für einatomige Gase wie für zwei- und mehratomige.

δ) Theoretische Betrachtungen für die Übertragung von Schwingungsenergie.

1. Allgemeine Bemerkungen. Über die Bestimmung der Übergangswahrscheinlichkeiten für den Übergang der Schwingungsquanten des Krystallgitters auf die einzelnen Normalschwingungen der adsorbierten Molekeln gibt es bereits einige Berechnungen auf quantenmechanischer Grundlage (*39*), (*49*), die dann über Gl. (10) auch den A.K. zu berechnen gestatten, sofern man die Verweilzeit als bekannt ansieht. Da die älteren Überlegungen aber meist allgemeiner gehalten sind und nicht auf ein spezielles Beispiel und die einzelnen Normalschwingungen der adsorbierten Molekel zugeschnitten sind, auf der anderen Seite aber auch die anteilmäßige Aufteilung der Energieakkommodation auf die einzelnen Normalschwingungen gemäß Gl. (13a) interessiert, so wollen wir uns jetzt auf ein bestimmtes Beispiel beschränken und an diesem auch die allgemeiner gültigen Tatsachen besprechen. Wir wählen hierzu die Akkommodation von CS_2 an Platin, ein Fall, der auch theoretisch kürzlich von GRAU und dem Verfasser (*40*), (*50*) durchgerechnet wurde. Nach den oben besprochenen, beim CO_2 und COS erhaltenen Ergebnissen dürfen wir auch beim CS_2 — das ja nach Tabelle 5 noch länger adsorbiert bleibt als COS — mit einer nahezu 100%igen Akkommodation der Translations- und Rotationsenergie rechnen. Wir werden später für die letzte Auswertung deshalb bei Temperaturen bis 0° C mit $\alpha_{trans+rot} = 1{,}00$ und darüber bis zu 80° C — weiter hinauf sind die A.Ken. nicht gemessen worden — mit $\alpha_{trans+rot} = 0{,}99$ rechnen; in der Absicht, so wenigstens annähernd eine geringe Variation der Akkommodation der äußeren Freiheitsgrade zu berücksichtigen. Im übrigen liegt diese geringe Unterschreitung des Grenzwertes 1 durchaus noch im Rahmen der experimentellen und der theoretisch zur Zeit möglichen absoluten Erfassung des A.K. der gesamten Energie von Gasmelekeln an festen Oberflächen.

2. Das Modell. Der erste weitere Schritt besteht in der Wahl eines bestimmten und plausiblen Modells. Wir denken uns dazu die CS_2-Molekel — um nachträgliche Mittelungen zu vermeiden — in einer gewissen mittleren Entfernung von den nächsten Pt-Atomen der Krystalloberfläche an dieser mit der CS_2-Richtung parallel zur Oberfläche, also mit allen Atomen anliegend, adsorbiert. Die sonstige Orientierung der CS_2-Molekel — d. h. zu welcher in der Oberfläche verlaufenden Richtung diese parallel ist — bleibt noch willkürlich. Wir rechnen entsprechend dem Abstand benachbarter Pt-Atome im Krystall von 2,76 Å und dem Molekeldurchmesser der CS_2-Molekel von 3,20 Å mit einer durchschnittlichen Entfernung des CS_2-Zentrums von den nächsten Pt-Gitteratomen von 3,61 Å, wobei also angenommen ist, daß die

adsorbierte Molekel etwas gegen die Richtung vom Pt-Gitteratom senkrecht zur Krystalloberfläche versetzt ist.

Die Wechselwirkung der CS_2-Molekel mit dem Gitter bestehe im wesentlichen in der elektrischen Wechselwirkung der im Rhythmus der Normalschwingungen der CS_2-Molekel hin- und herpendelnden partiellen CS_2-Dipole mit den als elektrisch geladen und punktförmig gedachten Pt-Atomrümpfen des Gitters. Den Einfluß der Elektronen (oder des Elektronengitters [s. unten]) muß man noch in geeigneter Weise abschätzen. Es geschieht dies nachher so, daß eine besondere Berechnung dieses Elektronenanteils nicht erforderlich wird.

Für das partielle Dipolmoment der CS-Bindung sei dabei ein Wert von $1{,}45 \cdot 10^{-18}$ elektrostatische (Debye-) Einheiten angenommen, der sich aus dem CO Partialmoment von 2,1 Debye durch Abzug der 0,65 Debye für das Dipolmoment der COS-Molekel ergibt. Hierbei ist berücksichtigt, daß man im Anschluß an neuere Untersuchungen von KEMPTER und MECKE (*51*) die früher angegebenen Partialmomente, die auf einen willkürlich gewählten Nullpunkt bezogen waren, um etwa 0,2 Debye-Einheiten zu verringern hat, um auf Absolutwerte zu kommen. Zudem spricht auch die Größe des Dipolmoments der Thioäther von 1,3—1,6 Debye für einen Wert des CS-Partialmoments von der angegebenen Größe. Die Ladung des Pt-Atomrumpfes im Krystall ist so angenommen, daß sich mit der einfachen HABER (*52*) und THOMSONschen (*53*) Vorstellung eines Metalls als eines „Ionengitters" mit Elektronen und positiv geladenen Atomrümpfen als Bausteine mit dem Gitterabstand des Pt-Krystalls von 2,76 Å der richtige Wert für die Gitterenergie des gesamten Krystalls ergibt. Man findet so für die Ladung des Pt-Rumpfes einen Wert von etwa einer Elementarladung, weshalb eben mit genau einer Elementarladung als Rumpfladung gerechnet wird.

Die mit der Frequenz der Normalschwingungen pendelnden Partialmomente der CS-Molekel werden nun ihre Energie mit der Energie eines schwingenden Gitteratoms nach Art zweier gekoppelter Pendel wechselseitig austauschen; es handelt sich nun — wenn in diesem klassischen Bilde geblieben wird — darum, die Zeit zu bestimmen, in der solch eine halbe Periode des Energieaustausches verläuft oder in der dieser Austausch — wenn die Definition mehr im Sinne der Quantentheorie formuliert wird — bis auf den e-ten Teil erfolgt ist. Dem Pt-Atom des Gitters wird dabei keine monochromatische Frequenz zugeschrieben, sondern unter Berücksichtigung der Tatsache, daß im Gitter ein ganzes Spektrum von Frequenzen (Debye-Spektrum) vorliegt, werden dem Pt-Atom nach Maßgabe der Häufigkeit der spektralen Frequenzverteilung verschiedene Frequenzen zugeordnet.

Es gilt noch, den Einfluß der Metallelektronen auf die Wechselwirkungsenergie mit der adsorbierten Molekel zu erfassen. Es interessiert hier natürlich nur die Änderung der Energie beim Schwingen des Pt-Atoms, denn nur dieser Anteil ist für die Übergangswahrscheinlichkeit der Energie maßgebend. Wenn nun das Pt-Atom seine Gleichgewichtslage verläßt, so wird das Elektronenmagna der Umgebung eine gegenläufige Bewegung ausführen, so daß die Schwerpunkte von positiver und negativer Elektrizität auch nach der Ausschwingung des Gitteratoms wieder nahezu zusammenfallen, jedenfalls sehr viel weniger voneinander differieren als beim Fehlen der gegenläufigen Elektronenbewegung. Hierdurch wird naturgemäß die Änderung der Wechselwirkung zwischen adsorbierter Molekel und Krystall wesentlich herabgesetzt. Es mag dann einfach wegen dieses Effektes mit einer *formalen Verminderung* des Partialmomentes der CS-Bindung gerechnet werden. Obwohl diese Vorstellung für die Gesamtbindung (Adsorptionsenergie) naturgemäß stärker abweichende Resultate liefern würde, wird sie zur Erfassung der Änderung der Energie, die hier allein interessiert, brauchbar sein. So kann man sich durch diesen Kunstgriff eine besondere Berechnung des Einflusses des Elektronenanteils ersparen.

Die ungefähre Größe dieser effektiven Verminderung der Änderung der Wechselwirkungsenergie läßt sich in folgender Weise abschätzen: Man denke sich eine Molekel $A\,B$ aus einem Kern, dessen Kernladungszahl gleich der Summe der Kernladungszahlen der Kerne von A und B ist und der von der entsprechenden Zahl von Elektronen umgeben ist, um ein neutrales Atom zu bilden, so entstanden, daß ein Teil des Kerns mit der Kernladungszahl von B sich allmählich von dem Rumpf entfernt, bis der normale Kernabstand in der $B\,A$-Molekel erreicht ist. Wenn nun A und B in der Molekel als verschieden geladene Ionen angesprochen werden können (z. B. HCl, HBr, NaCl usw.), so ist bekanntlich das Dipolmoment der Molekel $A\,B$ meist wesentlich kleiner als das Produkt von Ionenladung (meist gleich einer oder zwei Elementarladungen) und Kernabstand $A-B$. Der Grund hierfür liegt ebenfalls darin, daß die Elektronen beim Zustandekommen der Bindung eine gegenläufige Bewegung ausführen, die das Dipolmoment verkleinern: Dieses Verkleinerungsverhältnis kann für die einfachsten Ionenverbindungen, bei denen ein leichtes Atom (Wasserstoff) mit einem schweren Atom zu einer Ionenmolekel verbunden ist, aus der folgenden Tabelle 6 entnommen werden. Diese enthält den Kernabstand der Molekel im Gasraum, den Radius des als Anion fungierenden Atoms im neutralen Zustande und die durch das Produkt von Elementarladung und Molekelabstand berechneten Dipolmomente im Vergleich zu den beobachtenden Dipolmomenten. Der in der letzten Spalte angegebene Reduktionsfaktor ist einfach das Verhältnis der beiden Dipolwerte.

Tabelle 6. *Zusammenstellung von Dipolmomenten einfacher Ionenmolekeln.*

Molekel	Kernabstand l in Å	Atomradius in Å	Dipol-moment in Debye		Reduktionsfaktor
			berechnet aus $e_0 \cdot l$	beobachtet	
HCl	1,28	1,07	6,14	1,04	5,9
HBr	1,41	1,19	6,77	0,79	8,6
HJ	1,62	1,36	7,78	0,38	20,2

Wenn man zur Abschätzung versuchsweise das Platin in dem Pt-Krystall als Ionenmolekel im Sinne der HABER-THOMSONschen Vorstellung hier einordnen will als eine Molekel, bei der ein schweres Atom (Pt) mit einem dagegen sehr leichten (Elektron) zu einer Ionenverbindung (Ionengitter) zusammentritt, so wird man wegen des Atomradius von Pt von 1,38 Å bzw. des Gitterabstandes im Pt-Krystall von 2,76 Å einen über 20 gelegenen Reduktionsfaktor erwarten dürfen. Da dieser aber kaum über den Wert 30 herausgehen wird, denn der Atomradius ist nicht wesentlich größer als der des Jods, so darf man wohl mit einem Reduktionsfaktor von 25 rechnen. Dies bedeutet, daß man als *effektives* Partialmoment der C—S-Bindung in dem oben dargelegten Sinne einen Wert von etwa 1,45/25, d. h. wenig mehr als 0,05 Debye einzusetzen hat.

3. Ansatz der Wechselwirkungsenergie beim Schwingen. Da nur die Änderung der Wechselwirkung bei den Schwingungen der adsorbierten Molekel interessiert, so muß man noch die Änderung des Dipolmomentes bei den einzelnen Normalschwingungen kennen. Hierfür gibt es neuerdings einen Ansatz, der im Anschluß an die MORSEsche Potentialfunktion von MECKE und KEMPTER (*51*) entwickelt worden ist:

$$\left.\begin{aligned} &\mu = \mu_0 - \mu_0 [1 - e^{-a(r-r_0)}] [1 - \gamma\, e^{-a(r-r_0)}] \\ \text{mit}\quad &\gamma \approx 0{,}1 \text{ bis } 0{,}3\,, \end{aligned}\right\} \qquad (22)$$

während der Potentialansatz von MORSE

$$E_p(r) = -D_0 + D_0 [1 - e^{-a(r-r_0)}]^2 \qquad (22\,a)$$

lautet. Hier ist μ_0 das normale partielle Dipolmoment, $r - r_0$ die Differenz des Abstandes C—S gegen den Gleichgewichtsabstand, D_0 die Dissoziationsenergie für das Bindungspotential und a eine Konstante, die sich aus $\tilde{\nu}_e = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{2a^2 D_0}{m_s}}$ ergibt, wo $\tilde{\nu}_e$ die Wellenzahl der symmetrischen Valenzschwingung und m_s die Masse des S-Atoms und c die Lichtgeschwindigkeit ist. Mit einem Wert von etwa 140 kal für die Bindungsenergie C—S ergibt sich $a = 1{,}88 \cdot 10^8\ \text{cm}^{-1}$.

Die Wechselwirkung des partiellen Dipols der adsorbierten Molekel mit dem Pt-Atom bei seiner Schwingung kann dann durch

$$\left[\mu_0 + \left(\frac{\partial \mu}{\partial x}\right)_{x=0} \cdot x\right] \frac{e_0}{d^2} \cos \eta \tag{22b}$$

beschrieben werden, wenn x als Abkürzung für $r - r_0$ gebraucht wird. Gl. (22b) stellt die normale Wechselwirkung eines Dipols mit einer im Abstande d befindlichen Punktladung der Größe e_0 dar, wenn zwischen der Dipolachse und der Richtung vom Dipolzentrum nach der Punktladung der Winkel η eingeschlossen wird. Wenn hier für e_0 die Elementarladung eingesetzt wird, so kann bei der Berechnung von $\frac{\partial \mu}{\partial x}$ nach Gl. (22) dort gleich mit dem oben begründeten Effektivwert von 0,05 bis 0,06 Debye für μ_0 gerechnet werden.

Die Ansätze für die Wechselwirkung, die bei den verschiedenen Normalschwingungen in Rechnung zu bringen sind, lassen sich noch spezialisieren. Bei der symmetrischen Valenzschwingung der CS_2-Molekel wirken die beiden partiellen Dipole einander entgegen; man wird dann, weil die partiellen Dipole räumlich auseinanderfallen, mit etwas verschiedenen η- und d-Werten rechnen müssen; indem man Mittelwerte für den Abstand und die Differenz der cos η-Werte einführt, erhält man:

$$^*\Delta E_{\text{s. val}} = \left(\frac{\partial \mu}{\partial x}\right)_{x=0} \cdot x_{\text{s. val}} \frac{e_0 \Delta \cos \eta}{\bar{d}^2} \cos \varphi . \tag{23}$$

Dabei ist gleichzeitig der konstante, sich nicht bei der Schwingung ändernde Teil im Wechselwirkungsansatz weggelassen worden, da er für die Größe der Übergangswahrscheinlichkeit nicht von Belang ist. Berücksichtigt man noch den Umstand, daß ein Pt-Atom sich bei den Krystallschwingungen von seiner Gleichgewichtslage entfernt, durch etwas verschiedene $\bar{d}$-Werte, so kann man schließlich unter Berücksichtigung der geometrischen Konfiguration der adsorbierten Molekel setzen

$$^*\Delta E_{\text{s. val}} = 2{,}6 \cdot 10^{-8}\, x_{\text{s. val}} \cdot \frac{1}{1 + \left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right)^2 - 2\left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right) \cos \vartheta} \cdot \cos \varphi , \tag{23a}$$

wenn die Energie in erg gemessen und der Abstand bis zur Gleichgewichtslage des Pt-Atoms mit $\bar{d}_0$ bezeichnet wird. Es bedeutet ϱ die Elongation des Pt-Atoms aus der Ruhelage, ϑ den Winkel zwischen dem Vektor: Gleichgewichtslage — augenblicklicher Lage des Pt-Atoms und der Richtung Gleichgewichtslage—C-Atom der adsorbierten Molekel und φ beschreibt die Drehung der CS-Achse auf der Oberfläche des Metalls. Für die späteren numerischen Rechnungen ist es zum Teil zweckmäßig, den letzten Bruch in Gl. (23a) nach Kugelfunktionen

zu entwickeln, da sich dann wegen deren Orthogonalität eine Reihe von Vereinfachungen ergibt.

In völlig analoger Weise kann man auch für die Knickschwingungen die Wechselwirkung angeben, wobei freilich der senkrecht zur Oberfläche schwingenden ein Ausdruck ohne den Faktor $\cos\varphi$ entspricht. Es ergibt sich

$$*\Delta E_{\text{Knick}\,1} = 3{,}5 \cdot 10^{-6}\, x_{\text{Knick}\,1} \frac{1}{1 + \left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right)^2 - 2\left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right)\cos\vartheta} \tag{23b}$$

$$*\Delta E_{\text{Knick}\,2} = 3{,}5\, 10^{-6} \cdot x_{\text{Knick}\,2} \frac{1}{1 + \left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right)^2 - 2\left(\frac{\varrho}{\bar{d}_0}\right)\cos\vartheta} \cdot \cos\varphi\,. \tag{23c}$$

Weil die asymmetrische Valenzschwingung nichts Wesentliches zur Molwärme innerhalb des später betrachteten Temperaturgebietes beiträgt, so wird hierfür kein Wechselwirkungsansatz aufgestellt, denn dann hat diese Normalschwingung ebenfalls praktisch keinen Einfluß auf die Größe des A.K. Bei der Gewinnung der numerischen Werte in Gl. (23b) und (23c) wird der für die Knickschwingungen maßgebende Wert von $\left(\frac{\partial\mu}{\partial x}\right)_{\text{Knick}}$ aus dem Intensitätsverhältnis der Absorption der zugehörigen Rotationsschwingungsbanden im Ultraspektrum gewonnen; es gilt $\left(\frac{\partial\mu}{\partial x}\right)^2 \sim \varepsilon$, wo ε der jeweilige Extinktionskoeffizient ist. Über das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten der Knickschwingungsbande zur Bande der asymmetrischen Valenzschwingung — nur diese, nicht die symmetrische Valenzschwingung ist im Ultrarot aktiv — liegen beim CS_2 zwar keine sehr zuverlässigen Angaben vor, aber es ließen sich immerhin Abschätzungen $\varepsilon_{as}/\varepsilon_{\text{Knick}}$ vornehmen, die den Zahlenwert $3{,}5 \cdot 10^{-6}$ lieferten.

4. Übergangswahrscheinlichkeiten. Bei der Bestimmung der Übergangswahrscheinlichkeiten handelt es sich in der Hauptsache nur um die Berechnung des Übergangsintegrals

$$|\Delta E_a^e| = \int \psi_a^* *\Delta E_{NS}\, \psi_e\, d\tau\,. \tag{24}$$

Für $*\Delta E_{NS}$ ist hier der Wert für die jeweilige Normalschwingung einzusetzen. ψ_a^* ist der konjugiert komplexe Wert der Eigenfunktion ψ_a, ψ_a selbst und ψ_e sind die ortsabhängigen SCHRÖDINGERschen Eigenfunktionen des Ausgangszustandes bzw. des Endzustandes des aus adsorbierter Molekel und Pt-Atom bestehenden Systems.

Weil nun die Energie, die von einer Normalschwingung der adsorbierten Molekel in einem Elementarakt aufgenommen oder abgegeben werden kann, gleich $h\,\nu_{NS}$ ist und mit dem Energiebetrag, den das schwingende Pt-Atom abgibt oder aufnimmt, wegen des Energiesatzes übereinstimmen muß, so kann der Energieaustausch wegen $\nu_{NS} \neq \nu_{\text{Pt}}$

nicht in einfacher Weise erfolgen. Man hat vielmehr, da meist ν_{NS} beträchtlich größer ist als ν_{Pt}, die Frequenz ν_{NS} durch verschiedene kleine ganze Zahlen (n) zu dividieren, bis man so auf eine Frequenz stößt, die dem Debyeschen Spektrum des Platins angehört (ν_{Pt} ist ja nicht monochromatisch). Man muß dann für das Platin mit Quantensprüngen um mehrere (n) Einheiten rechnen, die eben sehr viel unwahrscheinlicher sind als Sprünge um eine Einheit. ψ_a wird nun dargestellt durch das Produkt der ψ-Funktion der Normalschwingung mit der Eigenfunktion eines dreidimensionalen Oscillators von der Masse des Pt-Atoms und der nach obigem Verfahren ermittelten Frequenz des Debye-Spektrums. ψ_e bedeutet dann das Produkt einer um eine Quanteneinheit geänderten ψ-Funktion der Normalschwingung mit einer um n-Quanteneinheiten geänderten ψ-Funktion des Kugeloscillators. Die Eigenfunktionen des Kugeloscillators drückt man zweckmäßig wieder durch Kugelfunktionen aus.

Die Übergangswahrscheinlichkeiten ergeben sich dann, wenn noch die Frequenz des Platinatoms, die aus dem Debye-Spektrum gemäß ν_{NS}/n mit ganzzahligem kleinem n ausgewählt worden war, mit ν_{Pt} bezeichnet wird, aus der Beziehung (*50*):

$$(p_a^e)_{NS} = \frac{4\left(\frac{h}{k}\right)^3 \frac{9}{\Theta_D^3} \nu_{\mathrm{Pt}}^2}{\hbar^2 n} |\Delta E_a^e|_{NS}^2 . \tag{25}$$

Hier bedeutet k die BOLTZMANNsche Konstante, Θ_D die Debyesche Grenztemperatur des Krystalls $\Theta_D = h\,\nu_{\mathrm{grenz}}/k$ und $\hbar$ wie üblich $h/2\pi$. Gl. (25) berücksichtigt in dem Faktor 4 im Zähler die Wechselwirkung mit 4 Platinatomen gleichzeitig (3 unmittelbare Nachbarn und weitere 33% für die Übernachbarn, die ihre Energie wesentlich schlechter austauschen). Es genügt natürlich, die Übergangswahrscheinlichkeiten für die kleineren n-Werte explizit zu berechnen, diejenigen für die höheren kann man dann abschätzen, weil diese sehr rasch klein werden und nicht mehr nennenswert ins Gewicht fallen. Die für die einzelnen Quantensprünge, die bei einer Normalschwingung möglich sind, erhaltenen bzw. abgeschätzten Übergangswahrscheinlichkeiten gilt es noch, nach Maßgabe der statistischen Temperaturverteilung zu mitteln, was für die einzelne Normalschwingung mit Hilfe der Beziehung geschieht (*50*):

$$\overline{P_{NS}^{(T)}} = \sum_n \left[\frac{1}{e^{\Theta/T} - 1} \cdot \frac{\sum (p_a^e)_{NS}\, e^{-\frac{\lambda\Theta}{nT}}}{\sum g_\lambda\, e^{-\frac{\lambda\Theta}{nT}}} \right] . \tag{26}$$

Hier bedeutet $\lambda\Theta/n$ den durch k (BOLTZMANN-Konstante) dividierten Energieterm des Pt-Atoms im Endzustand, in den es durch eine Energie-

aufnahme von der adsorbierten Molekel hineingelangt. Weil es bei gleichem n sehr viele energetisch verschiedene Ausgangs- und Endzustände des Pt-Atoms gibt, muß über diese summiert werden. Θ ist in Gl. (26) die charakteristische Temperatur $h \cdot \nu_{NS}/k$ der Normalschwingung.

5. Akkommodationskoeffizienten. So erhält man bei jeder Temperatur durch Mittelung für jede Normalschwingung eine mittlere Übergangszeit $\beta_{s\,i}$ gleich dem Reziproken der entsprechenden Übergangswahrscheinlichkeit, welche eben angibt, in welcher Zeit der Energieausgleich bei der betreffenden Normalschwingung bis auf den e-ten Teil erfolgt ist. In der folgenden Tabelle 7 sind die so erhaltenen Werte von $\beta_{s\,i}$ für Temperaturen zwischen 243° K und 359° K zusammen mit den beobachteten Verweilzeiten τ des CS_2 an Platin angegeben. Daraus können dann die partiellen A.Ken. $\alpha_{s\,i}$ der Normalschwingungen berechnet werden, die es gestatten, nach Gl. (13) und (13a) die A.Ken. der gesamten Molekel anzugeben (vorletzte Spalte). Dabei ist $\alpha_{\text{trans}+\text{rot}} = 1{,}00$ bzw. $= 0{,}99$ für $T \gtrsim 290°$ K) gesetzt; die Akkommodation der asymmetrischen Valenzschwingung ist trotz der hohen Dipolmomentänderung gleich 0,5 gesetzt, weil wegen deren hoher Frequenz (großes n) die p_a^e-Werte wieder geringer sein werden, was einen relativ kleinen partiellen A.K. zur Folge hat. Wegen des kleinen Beitrages dieser Normalschwingung zur Molwärme ($\leqq 0{,}2$ cal) ist darum bei derartiger genereller Abschätzung ihrer Akkommodation ohnehin kein merklicher Fehler zu befürchten. Die Θ-Werte der CS_2-Molekel liegen bei 568° K (Knickschwingungen), 937° K (symmetrische Valenzschwingung) und 2080° K (asymmetrische Valenzschwingung).

Der Vergleich mit den beobachteten A.Ken. in der letzten Spalte zeigt eine Übereinstimmung, wie sie besser nicht gewünscht werden kann.

Tabelle 7. *Aus Übergangswahrscheinlichkeiten berechnete partielle und totale A.Ken. von CS_2 an Platin im Vergleich zu beobachteteten Werten.*

Temperatur °K	Beobachtete Verweilzeit τ in sec $\cdot 10^{-5}$	$\beta_{\text{Knick 1}}$ in sec $\cdot 10^{-7}$	$\alpha_{\text{Knick 1}}$	$\beta_{\text{Knick 2}}$ in sec $\cdot 10^{-10}$	$\alpha_{\text{Knick 2}}$	β_{symm} in sec $\cdot 10^{-5}$	α_{symm}	$\alpha_{\text{trans+rot}}$	α_{ber}	α_{beob}
243	8,3	9,1	0,99		1,00	7,1	0,54	1,00	0,97	0,97
(273	3,6	7,2	0,98	3,8	1,00	4,8	0,43	1,00	0,95	0,95)
290	2,3	6,3	0,87		1,00	3,8	0,38	0,99	0,93	0,93
304	1,3	5,3	0,96		1,00	3,3	0,30	0,99	0,92	0,91
313	0,8	5,0	0,94		1,00	3,0	0,21	0,99	0,89	0,89
359	<0,1	3,6	~0,74		1,00	2,1	~0	0,99	~0,84	0,84

Die Abweichungen sind meist geringer als 1%; nur bei einer Temperatur erreichen sie gerade 1%. Dabei ist allerdings zu beachten, daß die Verweilzeit bei der höchsten Temperatur nur geschätzt werden konnte.

Dazu kommt freilich noch, daß der Effektivwert von μ_0 in Gl. (21) mit 0,050 Debye und der γ-Wert dort mit 0,3 so gewählt worden ist, daß sich bei 273° K eine volle Übereinstimmung ergab, weshalb in Tabelle 7 die zu 273° K gehörenden Werte eingeklammert wurden. Immerhin konnte der gewählte Effektivwert oben plausibel gemacht werden und auch $\gamma = 0{,}3$ entspricht noch den von MECKE an anderen Stoffen erhaltenen Ergebnissen (*54*), wenn man berücksichtigt, daß bei Molekeln mit schweren Atomen etwas höhere γ-Werte zu erwarten sind als an den von MECKE (a. a. O.) untersuchten Kohlenwasserstoffen. Weiter ist zu bemerken, daß der Wert von γ als Faktor in der Form $(1-\gamma)^2$ in das Endresultat für die Übergangswahrscheinlichkeit eingeht; wenn also für γ selbst ein Wert von etwa 0,1 zutreffen sollte, so wird dadurch die Übergangswahrscheinlichkeit noch nicht einmal um einen Faktor der Größe 2 geändert. Eine bessere Übereinstimmung ist auch sonst bei der Absolutberechnung von Reaktionsgeschwindigkeiten — darum handelt es sich ja hier — nicht zu erreichen. Auch ist die experimentell nach Gl. (21) bestimmte Verweilzeit τ, die ja den Absolutwert von α wesentlich bestimmt, nur bis auf einen Faktor der Größe 1—2 festlegbar, da die in Gl. (21) eingehende Oberflächenkonzentration wegen der im allgemeinen nicht genau definierten Oberflächengröße unsicher ist.

Besonders zu beachten ist eben der Umstand, daß nach Angleichung des A.K. bei *einer* Temperatur der gesamte Temperaturverlauf des A.K. richtig wiedergegeben wird; dies spricht dafür, daß der prozentuale Beitrag jeder einzelnen Normalschwingung zur Akkommodation der Schwingung bzw. der Gesamtakkommodation etwa durch die Theorie erfaßt werden kann.

Die numerische Durchführung der Theorie der Akkommodation mehratomiger Molekeln zeigt, daß sehr viele Molekulargrößen ihren Einfluß auf den Wert des A.K. haben. Generell kann man sagen, daß solche Normalschwingungen, bei denen das Dipolmoment sich stark ändert — die also auch im Ultrarot sehr aktiv sind — eine verhältnismäßig gute Akkommodation aufweisen, während die im Ultrarot inaktiven Normalschwingungen, die keine Dipoländerung bei der Schwingung zeigen, schlechter akkommodieren. Dies trifft hier auf die ultrarotaktiven Knickschwingungen und die inaktive symmetrische Valenzschwingung zu. Dies Resultat steht im Einklang mit dem Umstand, daß man auch bislang immer erwartet hat, daß bei Molekeln mit größerem Dipolmoment im allgemeinen auch die größeren A.Ken. auftreten werden (*55*). Wenn jedoch die betreffende Normalschwingung eine recht hohe Frequenz besitzt, so daß bei einem Elementarakt die Oscillatorschwingung des Metallatoms einen Quantensprung um sehr viele Einheiten ausführen muß, selbst wenn die Frequenz des Metallatoms als in der Nähe der Debyeschen Grenzfrequenz gelegen angesetzt wird (nur diese tragen

nennenswert zur Akkommodation bei), so ist der partielle A.K. dieser Normalschwingung wieder klein, denn die Übergangswahrscheinlichkeiten nehmen bei Sprüngen um mehrere Einheiten wesentlich ab, beim Vorliegen von Resonanz, d. h. bei Sprüngen um jeweils eine Einheit, sind sie am größten. Eine starke Herabsetzung der Akkommodation durch diesen Effekt bedingt, daß beim CS_2 die Akkommodation der asymmetrischen Normalschwingung wieder geringer wird, obwohl diese eine relativ große Dipolmomentänderung aufweist. Weiterhin können Auswahlregeln das Bild beeinflussen; es ist oft so, daß ein Sprung um $2m$ Einheiten sehr viel unwahrscheinlicher ist, weil er aus Symmetriegründen unter ein Auswahlverbot fällt, während der höhere Quantensprung um $2m + 1$ Einheiten wieder wahrscheinlicher ist. Dieser Fall liegt gerade bei der symmetrischen Valenzschwingung vor. Allgemein wird natürlich auch durch den Umstand, daß im Debyeschen Normalspektrum die langsameren Gitterfrequenzen seltener sind als die schnelleren, ein wesentlicher Einfluß ausgeübt.

So ergibt sich also die schon oben vermutete Tatsache, daß in vielen Fällen einige Normalschwingungen in einem relativ weiten Temperaturgebiet fast vollständig, andere praktisch gar nicht akkommodieren; es folgt mithin die Tatsache, daß bei Angabe der auf sämtliche Schwingungen bezogenen β-Werte, diese *paradoxerweise* um so größer sind, je größer die Verweilzeiten sind, denn größere Verweilzeiten erheischen ja starke Wechselwirkungskräfte, und diese lassen eigentlich hohe Übergangswahrscheinlichkeiten bzw. kleine β-Werte erwarten.

D. Schlußbetrachtungen.

a) Anwendungen.

Zum Schluß unserer Ausführungen mögen hier noch einige Betrachtungen über die praktischen und theoretischen Anwendungen der Kenntnis der thermischen Akkommodation Platz finden. Zunächst bietet die in B_a beschriebene Methode ein einfaches Verfahren, um bequem Molwärmen von Gasen zu messen. Der Vorteil dabei ist der, daß man mit geringen Mengen auskommt, weil man ja nur sehr geringe Drucke in dem zur Messung verwendeten Gefäß benötigt, so daß auch seltenere Gase, die wegen ihrer Kostbarkeit nicht in größeren Mengen zur Verfügung stehen, leicht untersucht werden können. Für theoretische Zwecke ist oft gerade die Kenntnis der auf den idealen Gaszustand — d. h. den Druck $p = 0$ — extrapolierten Molwärme erwünscht. Diese wird hier praktisch gemessen, so daß die umständliche und vielfach unsichere Umrechnung von höherem Druck — meist von $p = 1$ Atm., wo gewöhnlich gemessen wird — auf $p = 0$ in Fortfall kommt.

Eine Kenntnis des A.K. ist bei der Auswertung der Gl. (3) unbedingt erforderlich. Wenn man sicher sein will, daß die Akkommodation zu

100% erfolgt, so ist man auf Messungen bei tiefen Temperaturen beschränkt. Sowie man merklich über die Zimmertemperatur hinauskommt, wo die Normalschwingungen wesentlich zur Molwärme beitragen, also in das eigentlich interessierende Temperaturgebiet, so sinkt der A.K. wesentlich unter 1 ab. Hier muß man entweder den Wert des A.K. aus dem Verhalten chemisch ähnlicher Gase abschätzen oder die Messungen nach der in B_b beschriebenen Methode vornehmen. Weiter wäre es oft erwünscht, wenn man schon theoretisch zuverlässige Aussagen zu machen verstünde; hiervon sind wir aber trotz der besprochenen Ansätze noch weit entfernt. Wenn man jedoch in einem großen Temperaturgebiet eine solche Aufteilung des A.K. in seine verschiedenen Anteile hat, wie sie in Tabelle 7 für CS_2 enthalten ist, so sollte man den A.K. auf höhere Temperaturen extrapolieren können, um dann die Messungen nach Gl. (3) direkt auswerten zu können. Die Extrapolation nach dem Gesetz der logarithmischen Geraden, nach der $\log\left(\frac{1}{\alpha_s}-1\right)$ linear von $1/T$ abhängt, dürfte wenigstens *gelegentlich* ausreichen, um eine derartige Abschätzung vorzunehmen.

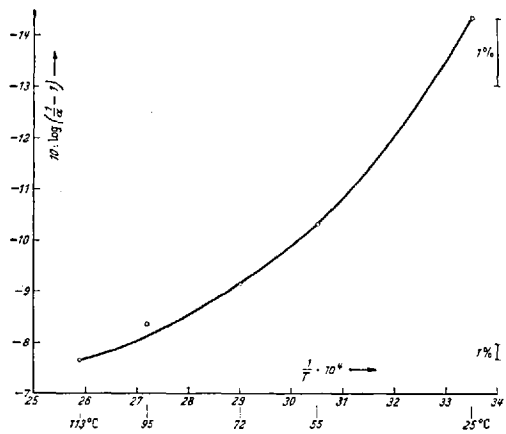


Abb. 13. A.K. von Methylalkohol bei 25—113° C.

Die Abb. 13 und 14 zeigen den Verlauf des A.K. und der Molwärme, der von G. Matz (*56*) mit der im Abschnitt B_b beschriebenen Methode für Methylalkohol zwischen 273 und 390° K erhalten wurde, im Vergleich zu anderen Meßresultaten. Hier ist übrigens $\log\left(\frac{1}{\alpha_s}-1\right)$ nicht durchweg linear von $1/T$ abhängig. Die Abbildungen enthalten darüber hinaus eine Angabe, wie stark sich ein Fehler von 1% in dem jeweiligen Meßbereich in der Zeichnung auswirken würde. Man erkennt deutlich, daß die von Eucken und Frank (*55*) mit der Drahtmethode unter der Annahme $\alpha = 1$ erhaltenen Molwärmen nur gerade noch bis 273° K zuverlässig sind, weil bereits bei 273° K und insbesondere darüber die Unterschreitungen unter den Grenzwert $\alpha = 1$ merklich werden. Bei 380° K wäre offenbar eine Auswertung der Messung mit der Annahme $\alpha = 1$ unmöglich und lieferte Fehler von 15—20%. Auf weitere Einzelheiten mag jetzt verzichtet werden.

b) Ausblicke.

α) Allgemeines.

Die Kenntnis der thermischen Akkommodation an Oberflächen, insbesondere eine theoretische Kenntnis der Art, wie sie hier bei der Aufteilung der Anteile des A.K. auf die einzelnen Schwingungsfreiheitsgrade gebraucht wurde, dürfte auch für eine große Zahl von Problemen eine Rolle spielen, bei denen die Energieübertragung von Wänden und Oberflächen auf adsorbierte Molekeln von entscheidender

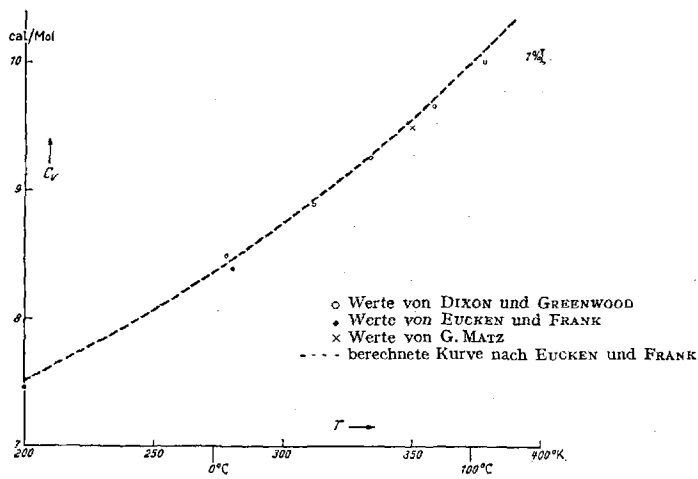


Abb. 14. C_v-Werte von Methylalkohol bei 200—400° K.

Bedeutung ist. Wenn z. B. eine adsorbierte Molekel an einer Oberfläche in eine für eine anschließende chemische Reaktion aktivierten Zustand gebracht werden soll, so ist es von Bedeutung, wie schnell dieser Zustand erreicht wird und — wenn er wieder durch Desaktivierung in den unwirksamen Normalzustand übergeht — wie oft dieser aktivierte Zustand in der Zeiteinheit durchlaufen wird. Wenn dann ein Reaktionspartner in der Nähe kurz verweilt, so ist es natürlich wesentlich, ob in dieser Zeit einmal von der ersten Molekel der aktive Zustand durchlaufen wird, denn dann wird sich im allgemeinen sofort die Reaktion — d. h. die Umbildung der Elektronenkonfiguration der Ausgangsmolekeln zu derjenigen der zu bildenden Molekeln — vollziehen. Der Weg zu einer derartigen Klärung solcher bei kontaktkatalytischen Reaktionen unter Umständen bedeutungsvollen Energieaustauschfragen ist noch weit, denn die ganze Frage liegt insofern um eine Größenordnung schwieriger, als es bei der thermischen Akkommodation nur auf die Wechselwirkung *einer* adsorbierten Molekel mit der Oberfläche ankam, während nun gleichzeitig noch die Einwirkung mindestens eines

zweiten Reaktionspartners hinzukommt. Außerdem können sich noch eine Reihe von vorbereitenden Teilreaktionen an der Oberfläche vor die eigentliche Reaktion einschieben, die das Bild noch weitgehend komplizieren.

Aber schon bei der bloßen thermischen Akkommodation gibt es noch eine Reihe von ausstehenden Einzelproblemen. So ging die obige Durchrechnung der Theorie der Akkommodation der einzelnen Normalschwingungen im numerischen Teil davon aus, daß die Frequenzen der Normalschwingungen der adsorbierten Molekel die gleichen seien wie diejenigen derselben Molekel im freien Gaszustand, was natürlich nicht genau zutreffen kann. Es würde selbstverständlich keine Schwierigkeit bedeuten, an Stelle der Normalfrequenzen der freien Molekel für die adsorbierte Molekel etwas geänderte Frequenzen einzusetzen; an dem früheren Rechnungsgang für die Übergangswahrscheinlichkeiten würde dies prinzipiell noch nichts ändern. Eine andere Konsequenz ist aber einschneidender. Den Adsorptionsakt hat man sich ja so vorzustellen, daß im wesentlichen die Translationsenergie herabgesetzt wird, die Schwingungsquantenzahlen dürften sich dabei im allgemeinen nicht ändern. Bei Änderung der Frequenz der Normalschwingungen im adsorbierten Zustand hat man aber im thermischen Gleichgewicht, d. h. also sogar bei vollständiger Akkommodation, eine andere Verteilung der Schwingungsquantenzahlen, als sie der freien Molekel bei der gleichen Temperatur zukommt. Diese Verteilung der Schwingungsquantenzahlen sollte dann im allgemeinen bei dem Desorptionsakt beibehalten werden, weil sich bei diesem wesentlich nur der Translationszustand der gesamten Molekel ändert.

Man könnte nun vermuten, daß etwa bei dem Adsorptionsakt und der sich anschließenden Akkommodation die adsorbierende Oberfläche den Schwingungen der Molekel im Mittel Energie entzöge, so daß sie mit weniger Schwingungsenergie wieder desorbiert würde. Dies kann aber nicht sein, denn wenn man so zwei Oberflächen verschiedenen Materials aber von gleicher Temperatur einander gegenüberstellte, so könnte ein dazwischen befindliches Gas, wenn für dieses der genannte Effekt an der einen Wand größer wäre als an der anderen, eine Erwärmung der einen Oberfläche unter Abkühlung der andern hervorrufen; ebenso könnte sich das Gas als solches gegenüber einer Wand bei ursprünglich gleicher Temperatur unter Erwärmung des Wandmaterials abkühlen. Diese Vorgänge stünden aber mit dem zweiten Hauptsatz der Thermodynamik in Widerspruch, so daß also bei dem Desorptionsakt die bei der Adsorption und der anschließenden Akkommodation aufgetretenen Effekte sich irgendwie kompensieren müssen. Wie dies im einzelnen geschieht, kann noch nicht gesagt werden; immerhin zeigt die Heranziehung des zweiten Hauptsatzes der Thermodynamik bei obiger Überlegung, daß

die Durchführung der theoretischen Berechnung des A.K. der Normalschwingungen in der oben geschehenen Weise, also ohne Annahme von Frequenzänderungen, ausgeführt werden darf, weil sich die eventuellen auftretenden Einzeleffekte irgendwie wieder kompensieren werden.

Durch eine eingehende Erörterung läßt sich — was ohne weiteres plausibel erscheinen mag — schon demonstrieren, daß im Moment unmittelbar nach dem Adsorptionsakt die Wahrscheinlichkeit des Wider-Desorbierens und auch die der Aufnahme von Schwingungsenergie der adsorbierten Molekel größer ist als in den späteren Zeitmomenten, weil die gesamte Adsorptionswärme in Gestalt von Gitterschwingungen an das Krystallgitter eben erst abgegeben wurde, so daß in der Nähe der Adsorptionsstelle noch eine so hohe Gitterenergie lokalisiert ist, die durch eine Quantenübertragung auf die adsorbierte Molekel deren Schwingungsanregung oder gar deren Desorption bewirken kann. Ist aber die Adsorptionsenergie erst einmal ins Innere des Krystalls abgeleitet worden, so befindet sich die Oberfläche des adsorbierenden Krystalls in ihrem Normalzustand. Dieser Normalzustand wurde den oben dargelegten Berechnungen naturgemäß zugrunde gelegt; die Komplikationen, welche durch den anfänglichen Anregungszustand auftreten, sind heute noch nicht streng zu erfassen. Eine gewisse Kompensation tritt hier nur wieder insofern auf, als sowohl die Verweilzeit als auch die Einstelldauer für die Übertragung der Schwingungsquanten verkürzt wird; nach Gl. (10) und (12) wirkt sich diese gleichzeitige Verringerung auf den A.K. und die partiellen A.Ken. weniger aus, weshalb die obige Berechnungsmethode auch jetzt noch gerechtfertigt wäre, sofern man auch die Verweilzeiten theoretisch unter den gleichen Annahmen bestimmen würde, was freilich oben nicht geschehen ist, denn eine experimentelle Verweilzeitbestimmung dürfte immer noch zuverlässiger sein als jede mit unserer heutigen Kenntnis durchführbare theoretische Absolutberechnung.

β) Adsorptionsisotherme.

Die eben dargelegten Erörterungen haben jedoch noch eine wesentliche Konsequenz auf die Gestalt der sog. LANGMUIRschen Adsorptionsisotherme. Bei deren kinetischer Ableitung stellt man gewöhnlich die Materialbilanz auf für die von der Flächeneinheit der Oberfläche in der Zeit dt desorbierenden Teilchen und für diejenigen, die in der gleichen Zeit dort adsorbiert werden (vgl. S. 98). Man hat also

$$\frac{c}{\tau} = \frac{p\Theta}{\sqrt{2\pi MRT}}\left(1 - \frac{c}{c_\infty}\right) \tag{27}$$

zu setzen, wo über die in Gl. (21) enthaltenen Größen hinaus noch die Wahrscheinlichkeit Θ eingeführt ist, daß eine aufprallende Molekel wirklich an der Oberfläche haften bleibt und nicht reflektiert wird, und der

Faktor $\left(1 - \frac{c}{c_\infty}\right)$, der berücksichtigt, daß eine Adsorption — wenn von Kondensation (Capillarkondensation usw.) abgesehen wird — nur eintreten kann, wenn an der Aufprallstelle der Gasmolekel nicht bereits eine andere Gasmolekel adsorbiert ist. Gl. (27) ist aber insofern noch ergänzungsbedürftig, als jedesmal, wenn in der Nähe einer bereits adsorbierten Molekel eine andere Gasmolekel aufschlägt und dort adsorbiert wird, nach unseren obigen Ausführungen wegen des Anregungszustandes der Oberfläche in der Nähe der schon adsorbierten Molekel eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für deren unmittelbare Desorption besteht. Diese höhere Wahrscheinlichkeit besteht naturgemäß auch, wenn die aufprallende Molekel direkt auf die schon adsorbierte auftrifft und diese also direkt losreißen kann. Weil diese Aufprallwahrscheinlichkeit einerseits proportional zu $p/\sqrt{2\pi MRT}$ und andererseits proportional zu c/c_∞ ist, so hat man auf der linken Seite von Gl. (21) noch ein zu diesen beiden Faktoren proportionales Glied hinzuzufügen:

$$\frac{c}{\tau} + \frac{c}{c_\infty} \frac{p \cdot \bar{P}}{\sqrt{2\pi MRT}} = \frac{p\Theta}{\sqrt{2\pi MRT}} \left(1 - \frac{c}{c_\infty}\right). \tag{27a}$$

Dabei wächst $\bar{P}$ offensichtlich mit steigender Temperatur wesentlich an, weil dann diejenige Umgebung der adsorbierten Molekel größer wird, innerhalb deren ein wirksames Aufschlagen anderer Gasmolekeln stattfinden kann; $\bar{P}$ kann sehr wohl größer als 1 sein. Es liegt in der Natur der Sache, daß mit steigender Temperatur Θ sinkt, weil die Wahrscheinlichkeit elastischer oder fast elastischer Reflexionen mit höherer Temperatur größer wird. Aus Gl. (27a) folgt:

$$c = \frac{p\, c_\infty}{\frac{c_\infty}{\tau} \frac{\sqrt{2\pi MRT}}{\Theta} + p\left(1 + \frac{\bar{P}}{\Theta}\right)} = \frac{p\, c_\infty^*}{b^* + p} \tag{28}$$

mit

$$c_\infty^* = c_\infty \Big/ \left(1 + \frac{\bar{P}}{\Theta}\right) \quad \text{und} \quad b^* = c_\infty \sqrt{2\pi MRT}/\tau\,(\Theta + \bar{P}).$$

Man erhält also wieder die Form einer LANGMUIRschen Isotherme, aber die Sättigungsbelegung c_∞^* bei hohem Druck erweist sich als temperaturabhängig; sie nimmt mit steigender Temperatur ab, was dem experimentellen Befund weit eher gerecht wird als ein konstantes c_∞^* nach der normalen LANGMUIRschen Vorstellung.

Streng gilt Gl. (27a) eigentlich nur bei kleinen c/c_∞-Werten, weil bei höheren Belegungen sich bereits in merklicher Anzahl verschiedene Wirkungssphären auf der Oberfläche überschneiden und mithin die Möglichkeit der Desorption schon adsorbierter Molekeln weiter anwächst. Die Berücksichtigung dieser Effekte, welche die Einführung von Gliedern mit

$(c/c_\infty)^2$ usw. in Gl. (27a) erfordern würde, überschreitet aber den Rahmen unserer Darstellung ebenso wie die Konsequenzen, die sich aus Gl. (27a) ergeben, wenn man diese Gleichung auf die Mischadsorption mehrerer Gase anwendet und beachtet, daß im allgemeinen eine schwerere Molekel eine leichtere eher beim Aufprall verdrängt als umgekehrt. Der Hinweis auf diese allgemeineren Phänomene mag hier genügen.

Literatur.

1. EUCKEN, A.: Untersuchungen über Kontaktkatalyse. Naturwissenschaften **36**, 48 (1949).
2. ADAM, N. K.: Physics and Chemistry of Surfaces, 2. Aufl. Oxford 1938.
3. EUCKEN, A.: Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/2, S. 1218, 2. Aufl. Leipzig 1944.
4. — Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/1, S. 377f., 2. Aufl. Leipzig 1943.
5. HUNSMANN, W.: Zur Kenntnis der inneren Rotation und der Normalschwingungen des Äthans. Z. physik. Chem. (B) **39**, 23 (1938). II. Die innere Rotationswärme des Äthans zwischen 94° K und 150° K.
6. EUCKEN, A., u. H. KROME: Die Ausgestaltung der Wärmeleitfähigkeitsmethode zur Messung der Molwärme sehr verdünnter Gase durch gleichzeitige Bestimmung des Akkommodationskoeffizienten. Z. physik. Chem. (B) **45**, 175 (1940).

6a. ORNSTEIN, L. S., u. W. R. VAN WIGK: Optische Untersuchungen des Akkommodationskoeffizienten der Molekulartranslation und dessen Verteilungsfunktion in einem verdünnten Gase. Z. Physik **78**, 734 (1932).

7. SCHLEIERMACHER, A.: Über die Wärmeleitung der Gase. Wied. Ann. **34**, 623 (1888).
8. EUCKEN, A.: Über die Temperaturabhängigkeit der Wärmeleitfähigkeit einiger Gase. Physik. Z. **12**, 1102 (1911).
9. HERCUS, E. O. u. D. M. SUTHERLAND: Die Wärmeleitfähigkeit der Luft nach einer Methode mit parallelen Platten bestimmt. Proc. Roy. Soc. Lond. (A) **145**, 610 (1934).
10. SCHÄFER, K.: Über das Verhältnis der Wärmeleitfähigkeit und Viskosität von Dipolgasen. Z. physik. Chem. (B) **53**, 149 (1943).
11. — W. RATING u. A. EUCKEN: Über den Einfluß des gehemmten Austausches von Translations- und Schwingungsenergie auf das Wärmeleitvermögen der Gase. Ann. Physik **42**, 176 (1942).
12. WEBER, SOPHUS: Über die Abhängigkeit des Temperatursprungs von dem Akkommodationskoeffizienten nebst einigen verwandten Wärmeleitungsproblemen in Gasen. Danske Vidensk. Selsk. mat.-fysiske Medd **16**, 9 (1939); und über den Einfluß des Akkommodationskoeffizienten auf die Wärmeleitung und Radiometerkraft in Gasen. Danske Vidensk. Selsk. mat. fysiske Medd **19**, 11 (1942).
13. TAYLOR, W. J., u. H. L. JOHNSTON: Eine Wärmeleitfähigkeitszelle für Präcisionsmessungen des Wärmeleitvermögens von Gasen innerhalb eines großen Temperaturbereichs. Ergebnisse bei Luft zwischen 87° und 375° K. J. Chem. Physics **14**, 219 (1946).
14. EUCKEN, A.: Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/1, S. 190f. Leipzig 1943.
15. — Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/1, S. 331. Leipzig 1943.
16. SCHÄFER, K. u. O. R. FOZ GAZULLA: Über die Druckabhängigkeit der Wärmeleitfähigkeit realer Gase. Z. physik. Chem. (B) **52**, 299 (1942).

17. GAZULLA, O. R. FOZ u. S. SENENT PEREZ: Über die Druckabhängigkeit der Wärmeleitung und die Bildung von Doppelmolekeln im Schwefeldioxyd. Z. physik. Chem. (A) **193**, 162 (1944).
18. EUCKEN, A., u. A. BERTRAM: Die Ermittlung der Molwärme einiger Gase bei tiefen Temperaturen nach der Wärmeleitfähigkeitsmethode. Z. physik. Chem. (B) **31**, 361 (1936).
19. — Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/2, S. 1371. Leipzig 1944.
20. ROBERTS, J. K.: Der Energieaustausch zwischen Gasatomen und festen Oberflächen. Proc. Roy. Soc. London (A) **129**, 14 6 (1930).
21. — Der Akkommodationskoeffizient von Neon. Proc. Roy. Soc. London (A) **142**, 518 (1933).
22. — Die Temperaturabhängigkeit des Akkommodationskoeffizienten von Helium. Proc. Roy. Soc. London (A) **135**, 192 (1933).
23. MANN, W. B.: Der Energieaustausch zwischen einer Pt-Oberfläche und He-Atomen und seine Abhängigkeit von der Struktur der Oberfläche. Proc. Roy. Soc. London (A) **161**, 236 (1937).
24. MICHELS, W. C.: Bemerkung zum Akkommodationskoeffizient von Helium. Phys. Rev. (2) **44**, 604 (1933).
25. MANN, W. B., u. W. C. NEWELL: Energieaustausch zwischen einer Platinoberfläche und Wasserstoff- und Deuteriummolekeln. Proc. Roy. Soc. London (A) **158**, 397 (1937).
26. DEVONSHIRE, A. F.: Die Wechselwirkung von Atomen und Molekeln mit festen Oberflächen. VIII. Der Energieaustausch zwischen einem Gas und einer festen Oberfläche. Proc. Roy. Soc. London (A) **158**, 269 (1937).
27. LENNARD-JONES, J. E., u. C. STRACHAN: Wechselwirkung von Atomen und Molekeln mit festen Oberflächen. Proc. Roy. Soc. London (A) **150**, 442.
28. EUCKEN, A.: Lehrbuch der Chemischen Physik, Bd. II/2, S. 653f. Leipzig 1944.
29. — Lehrbuch der Chemischen Physik, 2. Aufl. Bd. I, S. 497. Leipzig 1938.
30. LANDAU, L.: Zur Theorie des Akkommodationskoeffizienten. Physik. Z. Sowjetunion **8**, 489 (1935).
31. LENNARD-JONES, J. E. u. A. F. DEVONSHIRE: Die Kondensation und Verdampfung von Atomen und Molekeln (1. Mitteilung). Proc. Roy. Soc. London (A) **156**, 6 (1936).
32. — — (2. Mitteilung.) Proc. Roy. Soc. London (A) **156**, 29 (1936).
33. ROWLEY, H. H., u. K. F. BONHOEFFER: Über den Energieaustausch an der Grenzfläche Pt/H_2. Z. physik. Chem. (B) **21**, 84 (1933).
34. KNUDSEN, M.: Radiometerdruck und Akkommodationskoeffizient. Ann. Physik (5) **6**, 129 (1930).
35. DICKINS, B. G.: Die Wirkung der Akkommodation auf die Wärmeleitung durch Gase. Proc. Roy. Soc. London (A) **143**, 517 (1934).
36. BLODGETT, K. B., u. I. LANGMUIR: Akkommodationskoeffizient von Wasserstoff ein empfindliches Erkennungsmittel für Oberflächenschichten. Physical Rev. (2) **40**, 78 (1932).
37. SMOLUCHOWSKI, M. v.: Über Wärmeleitung in verdünnten Gasen. Wied. Ann. **64**, 101 (1898).
38. EUCKEN, A., u. H. JAAKS: Stoßanregungen intramolekularer Schwingungen in Gasen und Gasmischungen auf Grund von Schall-Dispersionsmessungen. Z. physik. Chem. (B) **30**, 85 (1935).
39. ZENER, CL.: Wechselwirkung zwischen Translations-, Rotations- und Schwingungsenergie bei molekularen Zusammenstößen. Physical Rev. (2) **37**, 556 (1931).
40. GRAU, G. G.: Die Akkommodation und Adsorption von Gasen an festen Oberflächen. Diss. Heidelberg 1949.

41. STROHMEIER, W.: Über den Zusammenhang zwischen Akkommodationskoeffizienten, Relaxationszeit und Adsorptionsisotherme an festen Oberflächen. Diss. Heidelberg 1948.
42. UBBELOHDE, A. R.: Die Wärmeleitfähigkeit mehratomiger Gaser. J. Chem. Physics **3**, 219 (1935).
43. WEINGARTEN, R.: Die Berücksichtigung des gehemmten Energieaustausches zwischen Translation und Schwingung auf die Wärmeleitfähigkeit mehratomiger Molekeln. Diss. Heidelberg 1948.
44. EUCKEN, A., u. S. AYBAR: Die Stoßanregung intramolekularer Schwingungen in Gasen und Gasmischungen. VI. Schallabsorptions- und Dispersionsmessungen an CH_4, COS und ihren Mischungen mit Zusatzgasen. Z. physik. Chemie (B) **46**, 195 (1940).
45. GRILLY, E. R., W. J. TAYLOR u. H. L. JOHNSTON: Thermische A.Ken. an blankem Platin für neun Gase zwischen 80° K (oder ihrem Siedepunkt) und 380° K. J. Chem. Physics **14**, 466 (1949).
46. HUNSMANN, W.: Eine Differentialmethode zur Messung kleiner adsorbierter Gasmengen. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 540 (1938).
47. — Versuche zur Ermittlung der Zeitdauer des Energieaustausches zwischen Gasmolekeln und festen Oberflächen. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 606 (1938).
48. KÜCHLER, L.: Diskussionsbemerkung zu dem Vortrage HUNSMANNS (Zitat 47) auf der Hauptversammlung der Bunsengesellschaft 1938. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **44**, 610 (1938).
49. HERZFELD, K. F., u. M. GÖPPERT-MAYER: Energieübertragung an adsorbierte Moleküle. Z. physik. Chem. Erg.-Bd. **1931** (BODENSTEIN-Festband).
50. SCHÄFER, K., u. G. G. GRAU: Die thermische Akkommodation und die Geschwindigkeit der Energieübertragung von CS_2 an Platin. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **53** (1949) (EUCKEN-Festheft im Druck).
51. KEMPTER, H., u. R. MECKE: Spektroskopische Bestimmung von Bindungsmomenten. Z. Naturforschung **2a**, 549 (1947).
52. HABER, F.: Beitrag zur Kenntnis der Metalle. Sitzungsber. Kgl. Preuß. Akad. Wiss. Berlin **1919**, 506.
53. THOMSON, J. J.: Anwendung der chemischen Elektronentheorie auf feste Körper. Philos. Magazine (6) **43**, 721 (1922).
54. MECKE, R.: Kräfte in Flüssigkeiten. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **52**, 269 (1948).
55. EUCKEN, A., u. E. U. FRANK: Gehemmte Rotation in Äther- und Alkoholmolekeln auf Grund von Molwärmebestimmungen. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **52**, 195 (1948).
56. MATZ, G.: Gleichzeitige Ermittlung von Akkommodationskoeffizient und Molwärme in hochverdünnten Gasen. Diss. Heidelberg 1949.

(Abgeschlossen im März 1949.)

Prof. Dr. K. SCHÄFER, Heidelberg,
Physikalisch-chemisches Institut der Universität, Plöck 55.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 119—174 (1949).

The Size and Shape of Protein Molecules*.

With Special Reference to Studies on Dielectric Dispersion and Double Refraction of Flow.

By

JOHN T. EDSALL.

With 14 Figures.

Contents.

page

General Introductory Considerations 119
Frictional Ratios from Sedimentation and Diffusion Measurements 122
The Calculation of Protein Hydration 124
Viscosity in Relation to Shape and Hydration 129
X-Ray Diffraction Measurements in Relation to Shape 133
β-Lactoglobulin 134
Insulin 134
Horse Methemoglobin 135
Rotary Diffusion Constants and Relaxation Times: Their Significance for Molecular Size and Shape 137
Double Refraction of Flow and Relaxation Times 143
Experimental Methods 148
Experimental Results 153
Relaxation Times from Dielectric Dispersion Measurements 155
Dipole Moments and Dielectric Increments of Amino Acids, Peptides and Proteins 155
Dielectric Dispersion and Relaxation Times 159
Methods of Dielectric Constant Measurement 163
Some Final Comments 165
Bibliography 168

The details of the molecular architecture of proteins are still quite unknown. However, we now have extensive information concerning molecular weights, and recent rapid advances in analytical methods have yielded nearly complete fairly accurate data on amino acid composition. Knowledge of composition is very far from being knowledge of structure, and the detailed pattern into which the amino acid residues are joined still eludes us. However, even without such detailed knowledge, great advances have been made in evaluating the general shape of protein molecules. In interpreting the results of experimental work, very simple models have been employed, the absolute dimensions of protein molecules being approximately specified generally by picturing them as ellipsoids of revolution, either oblate or prolate. It is obvious that

* This is a much expanded version of a lecture I gave in June and July 1948, while a member of the Unitarian Service Committee Medical Mission to Germany. See also, EDSALL (*27*), (*30*).

such a model can be used only in a very crude sense to represent a structure as complex as a protein molecule. In some cases, notably as a result of studies with the electron microscope and certain X-ray diffraction studies on protein crystals, it has been possible to give a somewhat more specific and detailed picture of the general shape of a protein molecule. For the most part, however, the estimates of shape and dimension which are cited in this discussion are tentative; they are to be regarded as giving the rough general outlines of shape, somewhat as if the molecule were being photographed by a camera which is rather badly out of focus. Even such fuzzy photographs, however represent a great advance over the state of complete ignorance regarding the molecular configuration of proteins which prevailed until a few years ago.

We shall not consider here the methods of determining the molecular weights of proteins, as distinct from their shapes and dimensions. Methods of determining molecular weight have progressed to a much more advanced level than those for determining shape, and the literature of this field is already abundant. The determination of molecular weight from sedimentation and diffusion methods has been comprehensively covered in the classical monograph of SVEDBERG and PEDERSEN (*122*). The other available methods of determining molecular weight have been reviewed by ONCLEY (*82*). Since his review was written, the use of osmotic pressure measurements has been developed into a more powerful tool, especially by SCATCHARD (*106*) and SCATCHARD, BATCHELDER and BROWN (*107*). The use of light scattering measurements in the determination of molecular weight, already successfully employed by PUTZEYS and BROSTEAUX (*100*), (*101*), has been greatly developed in recent years, especially by the work of DEBYE (*23*). A useful review of this field has been given by MARK (*70*)[1].

Significant information concerning the shapes and absolute dimensions of protein molecules has now been derived from at least 8 types of measurement.

1. The determination of frictional ratios from measurements of sedimentation constant or diffusion constant or both, for proteins of known molecular weight.

2. Viscosity measurements on protein solutions.

3. Measurements of dielectric constant as a function of frequency. These dielectric dispersion measurements permit the estimation of the relaxation times or rotary diffusion constants which characterize the rotary Brownian movement of the protein molecule.

[1] A review on the subject of light scattering by the present author is now in preparation.

4. Double refraction of flow measurements. These also give a measurement of rotary diffusion constant and are especially adapted to the study of highly asymmetrical molecules.

5. X-ray diffraction measurements on protein crystals.

6. Light scattering measurements, particularly determinations of angular dissymmetry of light scattering, or of the variation of scattering intensity with wavelength.

7. Determination of osmotic coefficients of proteins as a function of molecular asymmetry.

8. Direct photography of protein molecules with the electron microscope.

Some of these methods will here be dismissed rather briefly Since a detailed discussion of light scattering will be given elsewhere, no attempt will be made to do more than mention the importance of this method here. However, we should call attention to the work of OSTER, DOTY and ZIMM (*88*) who have obtained estimates of the absolute dimensions of tobacco mosaic virus, by measurements of the angular dissymmetry of light scattering, which are in very good agreement with values obtained by other methods. Also, we shall make no attempt here to discuss the correlation between osmotic coefficients of protein molecules and their shapes. Important discussions on the thermodynamics of solutions of large molecules have been given by HUGGINS (*54*), FLORY (*40*), SCHULZ (*111*), (*112*), (*113*), ZIMM (*135*), and MÜNSTER (*76*), (*77*). Theoretical treatments have been given by these authors both for flexible and rigid large molecules; the proteins in general belong to the latter class, as will be seen from further considerations discussed below. However, at present the experimental data on osmotic coefficients of proteins are still inadequate ior correlation with the theory. This is particularly true since proteins exist at their isoelectric points as dipolar ions of very high electric moment, and when not isoelectric, as ions often of large net charge. Therefore, there are important electrostatic terms which must also be considered and are commonly predominant in determining the thermodynamic behavior of protein solutions. These electrostatic effects have been considered elsewhere in great detail (*16*); with respect to osmotic pressure measurements on proteins, see also especially SCATCHARD, BATCHELDER and BROWN (*107*).

Determination of protein shape by photography with the electron microscope is of course, when it is feasible, the most direct method of determining the molecular dimensions. It has yielded vital information for some of the virus proteins and for certain other very large protein molecules. The evidence from electron microscope studies, however, cannot always be taken as final, for a preliminary drying of the protein preparation is essential before the photograph can be made, and the

possibility always remains that this may alter the structure and dimensions of the molecules. For the smaller protein molecules, no successful photographs have yet been achieved, although with increasing resolving power of the electron microscope, its possibilities are constantly being extended. In certain cases, however, the direct evidence of the electron microscope has given important confirmation of the dimensions inferred from other indirect measurements. This was notably the case with the studies of LAUFFER (*66*) on the size and shape of tobacco mosaic virus particles.

In what follows, we shall consider rather briefly the evidence from sedimentation and diffusion constants, from viscosity measurements, and from X-ray diffraction, while the determination of rotary diffusion constants and relaxation times from the measurements of dielectric dispersion and double refraction of flow will be presented in more detail.

Frictional Ratios from Sedimentation and Diffusion Measurements.

If the molecular weight of a protein is known from measurements of osmotic pressure, of sedimentation and diffusion, of sedimentation equilibrium, of light scattering, or by any other method, and if its partial specific volume is also known, then the frictional ratio f/f_0 may be determined either from its sedimentation constant or its diffusion constant. The frictional coefficient f_0 is that characteristic of a spherical unhydrated molecule of the same molecular weight and partial specific volume as the protein under consideration. If r is the radius of this hypothetical sphere and η the viscosity of the medium, then

$$f_0 = 6\pi\eta r N \tag{1}$$

if we express f_0 per mole protein. The anhydrous molecular volume is

$$V_{\text{mol}} = 4\pi r^3/3 \tag{2}$$

and the measured partial specific volume $\bar{V}$ is $\frac{4\pi r^3 N}{3M}$. This gives for f_0 the relation

$$f_0 = \eta\,(162\pi^2 M \bar{V} N^2)^{\frac{1}{3}}. \tag{3}$$

On the other hand, the frictional coefficient f of the actual molecule is given as a function of molecular weight and sedimentation constant s by the relation

$$f = M\left(\frac{1-\bar{V}\varrho}{s}\right) \tag{4}$$

where ϱ is the density of the solvent medium. This gives for the frictional ratio

$$f/f_0 = \frac{(1-\bar{V}\varrho)}{\eta s}\left(\frac{M^2}{162\pi^2 \bar{V} N^2}\right)^{\frac{1}{3}}. \tag{5}$$

On the other hand, f is very simply related to the translational diffusion constant D by EINSTEIN's equation

$$f = RT/D. \tag{6}$$

Thus, as a function of diffusion constant and molecular weight, f/f_0 is given by the relation

$$f/f_0 = \left(\frac{RT}{6\pi\eta DN}\right)\left(\frac{4\pi N}{3\bar{V}M}\right)^{\frac{1}{3}}. \tag{7}$$

It is common practice to express measured sedimentation and diffusion constants in terms of the values (S_{20} and D_{20}) that would be found for the given molecules if the measurements were made in water at 20° C., correcting the observed values by the appropriate coefficients, as discussed in detail by SVEDBERG and PEDERSEN (*122*). Under these circumstances, equation (*5*) becomes

$$f/f_0 = \frac{1.19 \cdot 10^{-15} M^{\frac{2}{3}}(1 - .9982\bar{V}_{20})}{s_{20}\bar{V}_{20}^{\frac{1}{3}}}, \tag{8}$$

$$f/f_0 = \frac{2.89 \cdot 10^{-5}}{D_{20}(\bar{V}_{20} \cdot M)^{\frac{1}{3}}}. \tag{9}$$

If we assume that the protein molecule can be represented by an ellipsoid of revolution, the axial ratio of the ellipsoid determines a value of the frictional ratio. The mathematical relations involved have been derived by PERRIN (*93*) and by HERZOG, ILLIG and KUDAR (*53*). Numerical values giving f/f_0 as a function of the axial ratio of the ellipsoid have been listed by SVEDBERG and PEDERSEN (*122*, p. 41) and by COHN and EDSALL (*16*, p. 406). However, the derivation of axial ratios from the f/f_0 values is by no means a straightforward process. The measured f/f_0 is determined not only by the shape, but the hydration of the protein. If the molecule is spherical, but binds w grams of water per g of protein, then the frictional ratio should deviate from unity by the factor

$$(f/f_0)_h = (1 + w/\bar{V}\varrho)^{\frac{1}{3}}. \tag{10}$$

The observed f/f_0 may be regarded as a product of a hydration factor $(f/f_0)_h$ and an asymmetry factor $(f/f_0)_a$.

$$(f/f_0)_{obs} = (f/f_0)_h (f/f_0)_a. \tag{11}$$

If the decrease of hydration is known or assumed, the effect which is due only to asymmetry may be evaluated. Even in this case, however, the result remains ambiguous, for a given value of $(f/f_0)_a$ is compatible with either a prolate or an oblate ellipsoidal molecule and the choice between these two possible models must be reached on other grounds. The most thorough discussion of this whole problem has been given

by ONCLEY (*82*), who has constructed a very useful contour diagram showing the possible values of hydration and asymmetry which are compatible with given f/f_0 values (Fig. 1)[1].

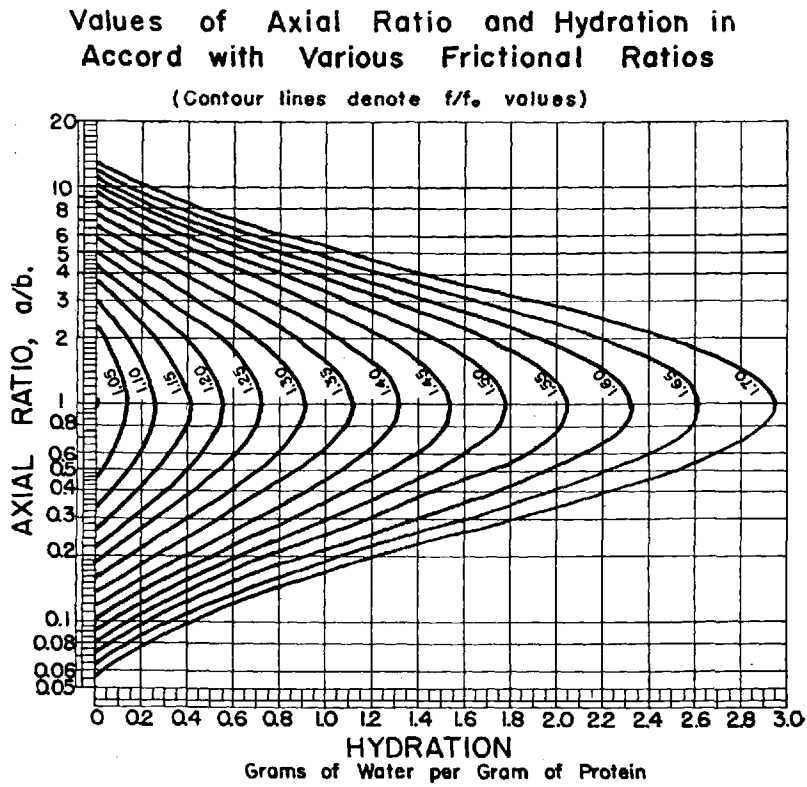


Fig. 1. From J. L. ONCLEY: Ann. N. Y. Acad. Sci. **41**, 121 (1941), page 131.

The Calculation of Protein Hydration.

The hydration (or more generally, solvation) of molecules or ions in solution is in many respects not a precisely defined concept. Some molecules of the solvent may be very firmly bound by the solute, so that they accompany it for a long period during a diffusion or sedimentation experiment, and exchange slowly or not at all with the free solvent molecules in the surrounding medium. Other solvent molecules may be

[1] It should be noted that ONCLEY has set the apparent density $1/\overline{V}\,\varrho = 1.34$ in the construction of this diagram. This value is sufficiently accurate for most proteins in water, but for proteins of partial specific volumes differing widely from 0.75 or dissolved in solvents of different density from water, the chart cannot be used directly.

very loosely bound, so that they are readily detached from the solute as it moves through the solvent. Between the very tightly and the very loosely bound solvent, there is in general an intermediate layer in which strength of binding decreases with distance from the center (or surface) of the solute molecule. If the transition from the tightly to the loosely bound layer is sharp, so that the intermediate zone is very thin or absent, the term "solvation" may be given a fairly precise meaning. If the intermediate zone, however, is several molecules thick, the binding of solvent by solute is an ambiguous concept, and cannot be expressed by any simple numerical value. The ultimate answer must be given in terms of intermolecular forces between solvent and solute. If the solute is a protein, the nature of the molecular surface is complex, since it contains ionic groups of positive and negative polar groups of various sorts and non-polar residues[1].

However, the measurement of hydration in crystals is fairly definite and unambiguous. It is not surprising, therefore, that certain data for hydration of protein crystals are more precise than those for any protein in solution. We may, therefore, consider these data first before taking up the more uncertain problem of hydration in solution. Apparently the first really direct measurements of hydration of protein crystals were made by McMeekin and Warner (*71*) on β-lactoglobulin. This protein could be crystallized either from water or from concentrated salt solutions. Large crystals 2 or 3 mm. long and 1 mm. in each of the other directions were readily obtained. McMeekin and Warner wiped adhering mother liquor off the crystal by placing it between two smooth pieces of cotton flannel, set the crystal on the pan of a sensitive balance, and determined the loss of weight as a function of time, on drying at room temperature in air. The weight of the crystal at zero time was determined by extrapolation. The final dry weight of the crystal was obtained by drying *in vacuo* over phosphorus pentoxide, or in a vacuum oven at 80°. Control experiments with crystals of $(NH_4)_2SO_4$, $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$, and $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$ indicated that the method gives accurate values for weight at zero time and for hydration.

Different experiments gave very consistent results. The loss of water was on the average 0.66 g., per gram of air dried protein; and

[1] Various authors, for instance Bull (*12*), have studied the binding of water by dry protein preparations as a function of the vapor pressure of water in the system. Bull interpreted his findings in terms of multilayer adsorption of water on the surface of the protein molecule, according to the theory of Brunauer, Emmett and Teller (*10*). Pauling (*90*) pointed out a correlation between Bull's data for water binding and the number of ionic and polar groups in the various proteins studied. For recent contributions to the problem of water binding by proteins, see for instance Mellon, Korn and Hoover (*75*) and Frey and Moore (*42*).

0.84 g. per gram of oven dried protein. The amount of water associated with 1 g. of protein remained unchanged when the salt free crystals were placed in concentrated ammonium sulfate solutions. Ammonium sulfate, however, was found to diffuse into the crystal. The ratio of ammonium sulfate to water in the crystal was found by direct analysis to be on the average 82% of that in the mother liquor, for mother liquors containing 28.9 to 31.6% of ammonium sulfate by weight.

The density of wet salt-free crystals was found to be 1.146, by immersion in bromobenzene-xylene mixtures of a series of different densities. After the crystals had remained 24 hours in the immersion medium, their density had risen to that of air dried crystals (1.260). On the other hand, the density of wet crystals equilibrated with a solution of saturated ammonium sulfate with added sodium sulfate was 1.240, showing the great increase in density of wet crystals due to the uptake of salt. The hydration values for wet crystals calculated from these density values agreed very well with those directly determined[1].

The same method was applied by BOYES-WATSON, DAVIDSON, and PERUTZ (*6*) in their comprehensive study of the crystal structure of horse methemoglobin. The results of their X-ray diffraction measurements are discussed later in more detail. They observed a series of crystals of varying water content. When the crystals were obtained directly from equilibration from the mother liquor, the liquid of crystallization was found to fill 52.4% of the volume of the unit cell. As more and more water was removed from the crystal, definite changes in the crystal structure were observed. From the X-ray diffraction measurements, it was inferred that the crystals consisted of layers of hemoglobin molecules alternating with layers of inter-molecular water. The progressive removal of water from the wet crystals resulted in shearing of the hemoglobin layers relative to each other, together with changes in the thickness of the liquid layer. There was no evidence that the molecules themselves were penetrated by the liquid of crystallization, their internal structure being apparently unaffected by swelling and shrinkage of the crystal. It was concluded that the liquid of crystallization consisted of two distinct components; water which was „bound" to the protein and unavailable as solvent to diffusing ions, and „free" water which was in

[1] Recently β-lactoglobulin crystals have been studied by SENTI and WARNER (*144*) with results in close agreement with those of MCMEEKIN and WARNER (*71*). SENTI and WARNER gave for the wet crystals: density 1.144, water content 46.2%. The density of crystals dried in air was 1.259 and their water content was approximately 9.8%. From their X-ray diffraction measurements, SENTI and WARNER concluded that the molecular weight of β-lactoglobulin lay between 35,000 and 36.000. Other authors have reported molecular weights as high as 42.000 or more. The paper by SENTI and WARNER gives references to the various determinations with some indication of the nature of the conflicting data.

dynamic equilibrium with the suspension medium. The "bound" water was estimated as 0.3 g/g protein. It is interesting to note that this amount of "bound" water is approximately what would be expected if a monolayer of water were distributed uniformly over the surface of the hemoglobin molecule. Assuming this degree of hydration and the molecular shape derived from the X-ray diffraction measurements, they obtained very satisfactory agreement between the calculated value (1.15) of f/f_0 and an experimental value (1.13) derived from a series of careful measurements of sedimentation constant of horse methemoglobin carried out by H. GUTFREUND (unpublished observations).

The extent to which these data for hemoglobin can be applied to other proteins is still uncertain, but the assumption of a hydration factor of approximately 0.3 g. water per g. protein would appear not unreasonable to adopt tentatively for other proteins in the absonce of more specific evidence. This was the figure chosen by ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*) in deriving the dimensions of various blood plasma protein molecules from sedimentation constants, viscosity and other data. However, in the case of one very unusual protein molecule, the β-lipoprotein of human plasma, they used a different procedure for calculating hydration[1]. PEDERSEN (*91*) had previously studied the sedimentation rate of this protein as a function of the density of the solvent medium, using salt solutions of varying concentration to vary the density. The sedimentation rate fell to zero in a medium of density close to 1.04, corresponding to a partial specific volume of the protein of 0.97. It was found by density and dry weight determinations (J. L. ONCLEY, M. MELIN and P. M. GROSS, Jr. unpublished) that the partial specific volume of the anhydrous protein was 0.95. From this, ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*) calculated the hydration factor for the β-lipoprotein as 0.6 g. water per g. protein. The experimental error in this factor is considerable, since a small change in the estimated specific volumes leads to a large change in hydration. However, this value was in good agreement with the value obtained from viscosity measurements on the assumption that the molecule was spherical and hydrated.

The use of sedimentation measurements in solvents of differing density has been extensively employed in the studies on viruses to determine hydration values. A number of earlier workers varied the density by adding sodium chloride, sucrose and other substances to the solvent medium; for example SMADEL, PICKELS and SHEDLOVSKY (*120*) in the study of vaccinia virus in sucrose solution. If the size, shape and internal

[1] This molecule actually consists, to the extent of approximately 75% by dry weight, of lipid, principally cholesterol and phospholipids, only about 25% consisting of amino acid residues, although this molecule is readily soluble up to a concentration of about 10% in dilute aqueous salt solutions.

composition of the virus are unaltered by variation in the solvent medium, then the product of sedimentation constant s and viscosity of the medium (η) should be given by the relation

$$\eta s = \frac{M(\varrho - \varrho_s)}{6\pi N \left(\frac{3\bar{V}M}{4\pi N}\right)^{\frac{1}{3}} \left(\frac{f}{f_0}\right) \varrho} \tag{12}$$

where ϱ is the density of the particles and ϱ_s that of the solvent. If this equation is applicable, ηs should be a linear function of ϱ_s and extrapolation of the linear plot to the value of ϱ_s corresponding to zero sedimentation rate should give the density of the particles themselves. However, SMADEL, PICKELS and SHEDLOVSKY (*120*) found that the plot was definitely non-linear for vaccinia virus in sucrose solution and concluded that sucrose was altering the density of the virus particles by removing water from them by osmotic action. This suggested that if the density could be altered by adding a substance of high molecular weight which would exert less osmotic effect the results would be different. Several years later SHARP, TAYLOR, MCLEAN, BEARD and BEARD (*117*) studied several strains of influenza virus in serum albumin solutions of varying density. In this case the plot of sedimentation rate against density was actually found to be linear and the density of the three strains of virus studied were estimated as close to 1.10 in aqueous suspension. The same method was applied by SHARP, TAYLOR and BEARD (*116*) to estimate the density of rabbit papilloma virus which was thus determined as 1.133. All of these values indicated a large degree of hydration. Thus, for rabbit papilloma virus the partial specific volume based on dry weight was 0.671, corresponding to a hydrationof 1.04 g. water per gram dry virus.

The very recent work of SCHACHMAN and LAUFFER (*109*) on tobacco mosaic virus, employing the same method of approach, has yielded new and important results. They found a plot of ηs of this virus to be a linear function of the density of the solvent, both in sucrose and in serum albumin solutions. However, the density intercept for zero sedimentation rate was 1.13 for serum albumin and 1.27 for sucrose. If these data were directly interpreted according to the argument presented above, this would give a hydration of 1.9 ml. water per ml. dry virus from the serum albumin measurements and 0.37 from the sucrose measurements. This great discrepancy obviously raises a question as to the justifiability of this interpretation. SCHACHMAN and LAUFFER (*109*) have developed an alternative hypothesis suggested by Prof. W. KAUZMANN of Princeton. If the medium surrounding the virus contains large spherical molecules of radius a, then the center of one these molecules cannot approach the surface of the virus particles to a distance less than a. Since a closer

approach is impossible, it may be calculated that this corresponds to having a shell of water of thickness a surrounding the virus molecules, into which the larger molecules of the surrounding medium cannot penetrate. If we take serum albumin, following ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*), as an ellipsoid of major axis, $2a = 150$ Å and $2b = 38$ A, then the equivalent shell into which albumin molecules cannot penetrate may be taken as $(a+b)/2$ A thick, following the arguments of SCHULZ (*112*). Thus, the region of non-penetration around the virus particle should be 47 A thick in serum albumin solution and only 6 or 7 A thick in sucrose solutions. This concept offers a direct explanation of the apparently much greater hydration of the tobacco mosaic virus in serum albumin than in sucrose. From the measurements in both media SCHACHMAN and LAUFFER (*109*) inferred that the true hydration, representing water actually bound to the virus, corresponded to a surface layer approximately 6 or 7 A thick, which was equivalent to a hydration of 0.15 ml. water per ml. virus. This degree of hydration appears plausible in the light of other available data. It should be noted that tobacco mosaic virus is chemically a nucleoprotein of highly regular internal structure as indicated by the X-ray diffraction measurements of BERNAL and FANKUCHEN (*2*), (*3*), while the vaccinia, influenza, and rabbit papilloma viruses are much more complex chemically, containing lipids and other components. It is highly probable that they lack the high degree of compactness and internal regularity of structure of the tobacco mosaic virus and may well be surrounded by some kind of a membrane across which water can pass. Therefore, the results of SCHACHMAN and LAUFFER (*109*) are not directly applicable to the other viruses studied, but they do furnish what appears to be a quite reliable value for the hydration of tobacco mosaic virus. It is interesting to note that this figure is considerably lower than the estimated hydration of hemoglobin in solution.

Viscosity in Relation to Shape and Hydration.

It has been known since the work of EINSTEIN (*36*), (*37*) that the relative viscosity of a dilute solution of large spherical molecules should depend only on the volume fraction occupied by the spheres, and not by their absolute size[1]. The presence of the spheres distorts the stream lines, as compared with the flow in the pure solvent which would occur at the same velocity gradient. Thereby, the amount of work required to maintain the flow, and hence the viscosity, is increased. In 1922, JEFFERY (*55*) extended EINSTEIN's method of calculation, and applied

[1] The word "large" here implies that the spherical solute molecules are large compared to the molecules of the solvent, so that it may be considered as a continuous medium in the hydrodynamic calculations, without serious error.

it to a system containing rigid ellipsoids of revolution, of any axial ratio. This calculation is much more complex than that for spheres, since the effect of an ellipsoid on the viscosity depends on its orientation relative to the stream lines. This orientation, in a flowing liquid, is constantly changing, due to two effects: (1) The velocity gradient in the liquid gives rise to a torque acting on the ellipsoids, maintaining them in a state of continued rotation. The speed of rotation varies with the orientation of the ellipsoid; the most favored orientation—i. e. that in which the speed of rotation is least—occurs when the major axis of the ellipsoid lies parallel to the stream lines. (2) The rotary Brownian movement of the ellipsoids tends to bring them back into a purely random arrangement, in which all orientations are equally probable. The intensity of this movement is expressed by the rotary diffusion constant, Θ; its relation to molecular size and shape is further discussed in a later section of this review.

The calculations of JEFFERY give the contribution of an ellipsoid, in any given orientation, at any instant to the viscosity of the liquid. To apply the calculations at an actual solution of molecules, of a given shape, at a given velocity gradient, one must be able to describe the system in terms of a distribution function, giving the relative numbers of molecules in the system having any given orientation, and then to add up the contributions of molecules in all orientations. Such a calculation was carried out by PETERLIN (*96*). He expressed the distribution function as dependent on the parameter $\sigma = G/\Theta$, the ratio of the velocity gradient to the rotary diffusion constant. When σ approaches zero, so that the Brownian movement predominates completely, the viscosity is high. When σ is large, so that the particles are highly oriented in the stream lines, the viscosity is much lower for highly asymmetrical molecules.

In general, a limiting expression for the viscosity at very low concentrations is given by the ratio

$$\nu = \lim_{F \to 0} \left(\frac{\eta_{rel} - 1}{F} \right). \tag{13}$$

Here, F is the volume fraction of the solute. The "Einstein coefficient" ν is 2.5 for spheres and is always larger for molecules which deviate from the spherical shape. ν is of course a function of the parameter σ. It approaches a lower limit ν_∞ at very high velocity gradient and an upper limit ν_0 at zero velocity gradient. Most relatively small proteins with absolute dimensions less than 500 or 600 A in any direction have sufficiently high rotary diffusion constants so that the measured value of ν may be taken as equal to ν_0 for the velocity gradient in almost any capillary viscometer. The rest of this discussion of viscosity will be

limited to this case in which the degree of orientation of molecules by the velocity gradient would be insignificant. The most rigorous calculation of the axial ratio of the ellipsoid of the ν values under these circumstances is probably that of SIMHA (*119*). The general equations for ν as a function of axial ratio are given in his paper, but it is more convenient for most purposes to use a table of numerical values in which the axial ratio a/b of the ellipsoid is tabulated as a function of ν †.

Table 1 [1]. *Axial ratios of prolate and oblate ellipsoids as a function of the viscosity increment ν.*

a/b or b/a	ν		a/b or b/a	ν	
	elongated	flattened		elongated	flattened
1.0	2.50	2.50	20.0	38.6	14.80
1.5	2.63	2.62	25.0	55.2	18.19
2.0	2.91	2.85	30.0	74.5	21.6
3.0	3.68	3.43	40.0	120.8	28.3
4.0	4.66	4.06	50.0	176.5	35.0
5.0	5.81	4.71	60.0	242.0	41.7
6.0	7.10	5.36	80.0	400.0	55.1
8.0	10.10	6.70	100.0	593.0	68.6
10.0	13.63	8.04	150.0	1222.0	102.3
12.0	17.76	9.39	200.0	2051.0	136.2
15.0	24.8	11.42	300.0	4278.0	204.1

Up to this point we have considered viscosity only as a function of shape and have neglected hydration. The volume fraction of the anhydrous protein may be calculated from its weight fraction and its partial specific volume. However, if 1 g. of protein binds $\underline{w}$ g. of water, the volume fraction of hydrated protein, F_h, is greater than that of the anhydrous protein by the factor

$$\frac{F_h}{F_0} = 1 + \frac{w}{\bar{V}\varrho}. \tag{14}$$

Thus, if we express concentration in terms of volume fraction of anhydrous protein, the values of ν so obtained are a function of both axial ratio and hydration. Here again, ONCLEY (*82*) has given an extremely useful

† The limiting equations derived by PETERLIN for ν as a function of axial ratio at $\sigma = 0$ give numerical values that are markedly different from those of SIMHA, whose equations contain an additional term not given by PETERLIN. The distribution function for molecular orientations, as given by PETERLIN, is apparently rigorously derived, although its numerical evaluation presents formidable difficulties. However, the application of this function to the evaluation of viscosity measurements appears to have been most rigorously carried out by SIMHA and his results should be considered the most reliable. In general, the equations of SIMHA, when applied to proteins, give a very satisfactory agreement with axial ratios deduced from other measurements. See also the very important paper of W. KUHN and H. KUHN, Helv. Chim. Acta **28**, 97 (1945).

[1] From MEHL, ONCLEY and SIMHA (*74*).

contour diagram showing the possible values of axial ratio and hydration which are compatible with any given value of ν (Fig. 2).

The coefficient ν is a limiting ratio, determined by extrapolation to zero volume fraction of solute. In making this extrapolation, it is

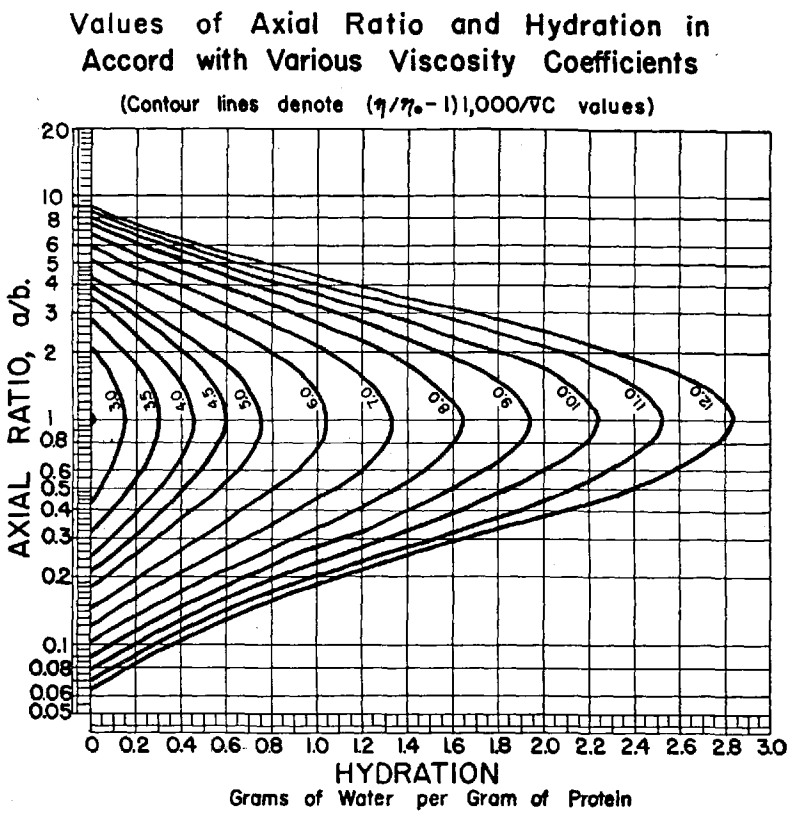


Fig. 2. From J. L. ONCLEY: Ann. N. Y. Acad. Sci. 41, 121 (1941), page 133.

helpful to note that for most protein solutions the logarithm of the relative viscosity is a linear function of the concentration up to relatively high concentrations, far above the range within which the function $\eta/\eta_0 - 1$ is linear in concentration. However, $\eta/\eta_0 - 1$ is the first term in the series expansion of the function $\ln \eta/\eta_0$. ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*) have made use of this relation by plotting the function $H = (\ln \eta/\eta_0)/c$ as a function of c, where c is the weight concentration in g/100 cm^3. The limiting slope of this function, as zero concentration is approached, is defined as H_0 and the EINSTEIN viscosity coefficient is equal to $100\,H_0/\overline{V}$. This method of extrapolation

has the great advantage that viscosity measurements at relatively high concentrations can be utilized in deriving the limiting slope, and the ucertainties involved in measurements of very low concentrations are thus avoided[1].

No comprehensive review of the literature dealing with the relations of viscosity and shape has been attempted here. Very useful reviews in this field have been given by BURGERS (*13*) and LAUFFER (*65*).

X-Ray Diffraction Measurements in Relation to Shape.

Ultimately X-ray diffraction measurements may yield detailed knowledge of the finer structure of the protein molecule, which is quite inaccessible by any of the other physical techniques now available. BERNAL, CROWFOOT and FANKUCHEN and others have shown that protein crystals, if kept undenatured and in equilibrium with their mothor liquor, yield X-ray diffraction patterns of remarkable sharpness and beauty, in which thousands of distinct reflexions can be observed. These correspond to spacings as small as 2 or 3 A and indicate a very high degree of internal regularity in the structure of the crystals. After drying, most protein crystals show much poorer diffraction patterns. The reflexions corresponding to the shorter spacings have largely disappeared, indicating a certain loss of regularity in the crystals[2].

Valuable information about molecular weight, and some information about molecular form, are obtained as soon as the volume of the unit cell and the density of the crystal are known. If the cell is of volume v and contains n molecules, the mass of one molecule is $v\,\varrho/n$, and the molecular weight is $N = 6{,}022 \cdot 10^{23}$ times as great; whence

$$M = \frac{v\,\varrho}{n} \cdot (6.022 \cdot 10^{23}) \cdot 10^{-24} = \frac{v\,\varrho}{1.66\,n} \qquad (15)$$

if v is expressed in cubic Ångstroms ($1\ \text{Å}^3 = 10^{-24}\ \text{cm}^3$).

"n" is always a small integer, the value of which may generally be readily determined from other data which approximately fix the molecular weight of the protein. It is to be noted that the molecular weight calculated from this formula, for a hydrated crystal, is the molecular weight of the protein hydrate, not that of the anhydrous protein.

In practice, the chief difficulty in applying this formula to proteins, has been, not in the determination of the volume of the unit cell,

[1] Many proteins are readily denatured at interphases and may deposit in the form of a thin insoluble film on the walls of a capillary or other glass vessel. If the protein concentration is very low, this loss of protein by surface denaturation may alter the actual protein concentration significantly as compared with that calculated and may thereby falsify the measured values of ν.

[2] For review of X-ray diffraction studies on crystalline proteins, see CROWFOOT (*21*) and FANKUCHEN (*38*).

but in the density determinations. Density determinations carried out by flotation of the protein crystals in aqueous solutions of varying composition and density – for example, solutions of sucrose or ammonium sulfate – may give quite misleading results, since the solute penetrates readily into the crystal and alters its density. Thus, flotation in aqueous solutions gives crystal density values which are valid only for equilibrium with the particular medium in which the crystal neither rises nor sinks. To interpret the results, the crystals must be analyzed for their content of all the components of the solvent medium. The X-ray measurements are seldom carried out on crystals equilibrated with these same media; hence it is usually not justifiable to employ density values so obtained to interpret the X-ray data. The work of MCMEEKIN and WARNER (*71*) and of SENTI and WARNER (*114*) on the density of β-lactoglobulin crystals by measurements of flotation in bromobenzene-xylene solutions has already been discussed.

β-Lactoglobulin. This protein crystallizes in two forms, tetragonal and orthorhombic. For the wet unit cell of the latter, SENTI and WARNER (*114*) give $\underline{a} = 69.29$, $\underline{b} = 70.42$ and $\underline{c} = 156.5$ A; these figures are in quite close agreement with the earlier data of CROWFOOT (*21*). The number, n, of molecules per unit cell, is almost certainly 8; and the water content is 46.2%. This gives an anhydrous molecular weight of 35.400. Certain restrictions on molecular dimensions are obviously imposed by the requirement that 8 molecules shall fit into this unit cell. CROWFOOT (*21*, p. 223) stated: "The PATTERSON projections from wet tabular lactoglobulin indicate that the molecules are packed in a pseudo-face-centered cubic array. Such an arrangement suggests that the molecules are not far from spherical, though a dissymmetry of the axes as great as 2:1 is possible." Other data from studies in solution, as we shall see, suggest a slightly higher degree of asymmetry than this. Further inferences from the X-ray data on β-lactoglobulin do not seem warranted as yet.

Insulin. CROWFOOT's studies on insulin (*21*), however, permit more definite inferences concerning molecular shape. The rhombohedral unit cell contains only one molecule, of anhydrous molecular weight near 36.000. CROWFOOT concluded that the molecule might, as one possibility, be roughly represented by an oblate ellipsoid of height 30 A and diameter 74.8 A; the most compact alternative model was a prism of hexagonal base, 43 A across and 30 A in height. The actual shape might lie somewhere between these extremes. From the symmetry requirements, this molecule was inferred to contain a three-fold symmetry axis, and thus to consist of three identical submolecules of molecular weight 12.000. The amino acid analysis of insulin, as reported by CHIBNALL (*15*)[1]

[1] See however BRAND (7).

was consistent with a minimum molecular weight of 12.000; and molecules of this molecular weight habe been observed in insulin solutions, particularly in acid solutions near p_H 2, at low salt concentrations [GUTFREUND (*49*); J. L. ONCLEY and E. ELLENBOGEN, unpublished observations; E. ELLENBOGEN, Thesis, Harvard University, 1949].

Horse Methemoglobin. The X-ray diffraction study of crystals of this protein by PERUTZ and his associates (*6*) has yielded the most detailed picture yet obtained by physical methods of any protein molecule. The crystals are monoclinic (space group C 2) and contain two molecules of hemoglobin per unit cell. From the nature of the space group symmetry, the molecules must themselves possess a two-fold symmetry axis, so that each molecule is composed of two identical halves. The wet crystals contain liquid of crystallization, which occupies 52.4% of the unit cell volume. Later stages in the analysis have proceeded largely on the basis of deliberate variation in the amount and composition of the liquid of crystallization, making use of the effects of these variations on the X-ray patterns. The *composition* of the liquid of crystallization was varied by allowing heavy ions to diffuse into the crystals, thus increasing its electron density, while leaving that of the protein molecules themselves unmodified. The presence of heavy ions in the liquid had a very great effect on the intensities of some of the lower order reflections, but very little on those of the higher order. This was in harmony with the view that the protein molecules are rigid and impenetrable to the liquid, rather than being sponge-like and permeable to the added ions.

The effects of swelling and shrinking yielded still further important information. [See also PERUTZ (*95*).] A series of crystals of varying content of liquid of crystallization were studied. In all of them the a and b axes remained constant at 109 and 63,2 A respectively, while the length of the c axis and the monoclinic angle, β, changed discontinuously at certain critical values of salt concentration or p_H. The constancy of the a and b axes under a wide variety of conditions led to the inference that the hemoglobin molecules are packed in layers, with alternating layers of liquid between them; and this inference accords with all the other data. Swelling and shrinking alters the thickness of the liquid layers and causes the protein layers to be sheared relative to one another, but does not appear to alter the internal structure of the hemoglobin molecules themselves, or the intermolecular distances in the protein layer.

The details of the series of procedures, by which a general picture of the shape of the molecules was derived from the X-ray measurements, cannot be given here. At no point in the analysis is there a rigorous and conclusive demonstration of structure, comparable to what has been

achieved for simpler crystals that have been completely analyzed. The argument developed by PERUTZ is more in the nature of a chain of circumstantial evidence which, in its cumulative effect, is very impressive, but is not to be taken as a decisive proof of the conclusions reached. In any case, of course, it leads only to a picture of the general form of the molecule, which is taken as a circular cylinder 57 A in diameter and 34 A in height. This cylinder appears to be subdivided into four layers of scattering material parallel to the cylinder axis, each layer being approximately 8.5 A thick. It is tempting to identify these layers with folded polypeptide chains, but this hypothesis cannot be considered proven. The *orientation* of the four heme groups is known from studies of the dichroism of the crystals, which indicate unequivocally that the plane of the heme groups is very nearly parallel to the cylinder axis, but their *position* in the molecule cannot be specified on the basis of the present evidence. The two-fold axis of symmetry in the molecule is perpendicular to the cylinder axis and parallel to the plane of the heme groups[1].

Studies of hydration and density of the methemoglobin crystals (*6*), (*95*) indicate that the water can be divided into "free" and "bound" water, the latter being unavailable as solvent to the diffusing ions and amounting to approximately 0.3 g. per gram of protein[2].

The available knowledge on the structure of hemoglobin has been critically reviewed by WYMAN (*133*) who has drawn further inferences concerning the arrangement and binding of the heme groups by analysis of the oxygen dissociation curves, the BOHR effect and other equilibria in which these groups are involved. He infers that the four hemes are arranged in two pairs, with very strong interactions between the members of each pair, and considerably weaker interactions between members of different pairs. Although the heme groups probably lie on the surface of the molecule, their positions cannot yet be specified more precisely. From the evidence considered by WYMAN (*133*), however, it seems most likely that the iron atoms of the heme groups are linked to the globin portion of the molecule by imidazole groups of histidine residues.

This picture of the hemoglobin molecule is certainly, as PERUTZ says, still a very general and fuzzy one, which omits all the finer details of molecular configuration. However, it is the most specific picture that has yet emerged for any protein.

[1] *Note added in proof:* Further inferences have been drawn, as a result of the analysis of a three-dimensional PATTERSON-diagram, concerning the orientation and folding of the polypeptide chains within the layer structure of the hemoglobin molecule. See M. F. PERUTZ, An X-ray Study of Methemoglobin. II. Proc.Roy. Soc. (London) **A 195**, 474 (1949).

[2] See the previous discussion of protein hydration, p. 124—129.

Rotary Diffusion Constants and Relaxation Times: Their Significance for Molecular Size and Shape.

In the following sections, we shall consider the use of double refraction of flow and dielectric dispersion for the determination of molecular shape. Both of these techniques provide methods of measuring rotary diffusion constants or relaxation times; and we shall consider them primarily from this point of view, although each method also provides other important kinds of information. Before considering the methods and the experimental results, therefore, we shall consider the meaning of these concepts and their relation to molecular size and shape. The rotary diffusion constant, Θ, like the translational diffusion constant, D, is a measure of the intensity of Brownian movement of the molecule under consideration. Imagine all the molecules oriented by an external force so that their principal axes are parallel, and suppose this orienting force to be suddenly removed, so that the subsequent motion of the molecules is purely random. After the lapse of a short time, t, a given molecule will have shifted through an angle, Φ, with respect to its original orientation[1]. Then Θ, as defined by EINSTEIN, is directly proportional to the mean square value of Φ for all molecules in the system.

$$\Theta = \frac{1}{2}\frac{\overline{\Phi^2}}{t}. \tag{16}$$

The derivation of equation (*16*) is exactly analogous to the derivation of the corresponding equation for translational diffusion [see, for instance, WILLIAMS and CADY (*130*)][2].

Θ, like D, is directly proportional to the thermal energy of the molecule; similarly, it is inversely proportional to a rotary frictional constant, ζ, which is a function of the size and shape of the molecule and the viscosity of the medium in which it is immersed; ζ is a measure of the torque which must be applied to cause the molecule to rotate with unit angular velocity (*92*).

$$\Theta = \frac{kT}{\zeta}. \tag{17}$$

Here k is BOLTZMANN's constant, and T the absolute temperature. In the general case of an ellipsoid with three semi-axes, a, b and c, of

[1] Here the angle Φ is not the total angular displacement of the molecule, but the projection of this angle on the plane onto which the observer is looking. For instance, if one could observe the molecule through a microscope and measure the angle with the aid of a micrometer and cross-hairs, the measured angle is the angle of rotation as observed in projection on a plane perpendicular to the axis of the microscope tube.

[2] The dimensions of Θ, as is seen from (*16*) are t^{-1}, and we shall express its value in sec^{-1}. The dimensions of the translational diffusion constant, on the other hand, are of course $l^2 t^{-1}$.

different lengths, three different rotary frictional constants are required to characterize the resistance of the medium to rotation of the molecule about each of threse axes. There are three corresponding rotary diffusion constants.

$$\Theta_a = \frac{kT}{\zeta_a}; \qquad \Theta_b = \frac{kT}{\zeta_b}; \qquad \Theta_c = \frac{kT}{\zeta_c}. \tag{18}$$

We shall confine our subsequent discussion to ellipsoids of revolution, for which

$$\zeta_b = \zeta_c.$$

For many purposes, it is more convenient to characterize the rotary Brownian movement by another quantity, the relaxation time τ. We may imagine the molecules oriented by an external force so that the a axes are all parallel to the x axis (which is fixed in space). If this force is suddenly removed, the Brownian movement leads to their disorientation. The position of any molecule after an interval of time may be characterized by the cosine of the angle ϑ between its a axis and the x axis. (The molecule is now considered to be free to turn in any direction in space —its motion is not confined to a single plane, but instead may have components about both the b and c axes.) When the mean value of cosine ϑ for the entire system of molecules has fallen to $1/e$ ($e = 2.718\ldots$ is the base of natural logarithmus), the elapsed time is defined as the relaxation time τ_a, for motion of the a axis[1]. The relaxation time is greater, the greater the resistance of the medium to rotation of the molecule about this axis, and it is found that a simple reciprocal relation exists between the three relaxation times τ_a, τ_b, τ_c, for rotation of each of the axes, and the corresponding rotary diffusion constants defined in equation (*18*).

$$\tau_a = \frac{1}{\Theta_b + \Theta_c}; \qquad \tau_b = \frac{1}{\Theta_a + \Theta_c}; \qquad \tau_c = \frac{1}{\Theta_a + \Theta_b}. \tag{19}$$

For an ellipsoid of revolution, these equations become:

$$\tau_a = \frac{1}{2\Theta_b}; \qquad \tau_b = \tau_c = \frac{1}{\Theta_a + \Theta_b}. \tag{19a}$$

If the solute molecule is spherical, and is very large in comparison to the solvent molecules, the inner frictional constant ζ is given by a formula due to STOKES:

$$\zeta_{\text{sphere}} = 8\pi\eta r^3, \tag{20}$$

where r is the radius of the sphere and η is the viscosity of the solvent. The molecule is characterized by a single rotary diffusion constant Θ, and a single relaxation time:

$$\Theta = \frac{1}{2\tau} = \frac{kT}{8\pi\eta r^3}. \tag{21}$$

[1] Concerning relaxation times, see DEBYE (*22*) and F. PERRIN (*92*).

This formula, due to EINSTEIN, was experimentally verified by JEAN PERRIN (*94*) by direct microscopic observation of spherical colloidal mastic particles (with radius $6.5 \cdot 10^{-4}$ cm), which contained small enclosures of impurities on the surface, thus permitting their rotary motion to be directly followed.

Generalizing the hydrodynamical equations derived by STOKES for spheres, EDWARDES (*35*) calculated the coefficients ζ_1, ζ_2 and ζ_3 for ellipsoids as a function of their axial ratios. The general equations are complicated; but for ellipsoids of revolution, which may be characterized by only two values of ζ, they assume a simpler form, and have been employed by GANS (*47*) and F. PERRIN (*92*) to evaluate the rotary diffusion constants of molecules which may be treated as ellipsoids of revolution. The formulas of GANS and PERRIN are not identical, but the numerical values of Θ calculated from them are nearly so, so that the formulas of either author may be used in practice. In the following discussion we shall employ PERRIN's equations.

The volume of the ellipsoid (of axial ratio a/b) is

$$V = \frac{4\pi}{3} a b^2. \tag{22}$$

The rotary diffusion constant Θ_0 and relaxation time τ_0 of a sphere of the same volume would be given by the relations

$$\Theta_0 = \frac{1}{2\tau_0} = \frac{kT}{8\pi a b^2 \eta}. \tag{23}$$

Consider first the case of an elongated ellipsoid of revolution ($a > b$). Rotary Brownian movement of the a axis about the b axis is characterized by the relaxation time τ_a and the corresponding rotary diffusion constant $\Theta_b = 1/2\tau_a$ [see Equation (19a)]. These constants are conveniently expressed by their values relative to those for a sphere of the same volume. Denoting by q the ratio b/a, PERRIN's equation reads

$$\frac{\tau_a}{\tau_0} = \frac{\Theta_0}{\Theta_b} = \frac{2(1-q^4)}{\frac{3q^2(2-q^2)}{\sqrt{1-q^2}} \ln \frac{1+\sqrt{1-q^2}}{q} - 3q^2}. \tag{24}$$

τ_a/τ_0 is always greater than unity, and increases very rapidly as a/b increases. If $a \gg b$, (24) reduces approximately to the simpler formula:

$$\frac{\Theta_b}{\Theta_0} = \frac{\tau_0}{\tau_a} = \frac{3b^2}{2a^2}\left[-1 + 2\ln\frac{2a}{b}\right]. \tag{24a}$$

If $a > 5b$, the values of Θ and τ, calculated from formula (24a), agree within 1% with those calculated from the exact formula (24). HENCE Θ_b, from (23) and (24a), equals approximately:

$$\Theta_b = \frac{3kT}{16\pi\eta a^3}\left[-1 + 2\ln\frac{2a}{b}\right]. \tag{25}$$

Thus, for a given value of a/b, the rotary diffusion constant of an elongated ellipsoid is inversely proportional to the cube of its length.

For the relaxation time τ_b of an elongated ellipsoid of revolution involving rotation of the b axis, which may involve turning about both the a and the c $(= b)$ axis, PERRIN finds

$$\frac{\tau_b}{\tau_0} = \frac{2\Theta_0}{\Theta_a + \Theta_b} = \frac{4(1-q^4)}{\frac{3q^2(2q^2-1)}{\sqrt{1-q^2}} \ln \frac{1+\sqrt{1-q^2}}{q} + 3}. \tag{26}$$

If $a \gg b$, then $(q \to 0)$, and (26) reduces approximately to

$$\frac{\tau_b}{\tau_0} = \frac{2\Theta_0}{\Theta_a + \Theta_b} = \frac{4}{3\left(1 - \frac{b^2}{a^2} \ln \frac{2a}{b}\right)}. \tag{26a}$$

Thus τ_b for an elongated ellipsoid is always greater than τ_0, but never becomes greater than $4\tau_0/3$, even when a/b becomes infinite.

For a flattened ellipsoid ($a < b$, and $q > 1$) a different set of equations holds. For rotation about the equatorial (b) axis

$$\frac{\tau_a}{\tau_0} = \frac{\Theta_0}{\Theta_b} = \frac{2(1-q^4)}{\frac{3q^2(2-q^2)}{\sqrt{q^2-1}} \tan^{-1}\sqrt{q^2-1} - 3q^2}. \tag{27}$$

and for rotation about the a axis (axis of revolution)

$$\frac{\tau_b}{\tau_0} = \frac{2\Theta_0}{\Theta_a + \Theta_b} = \frac{4(1-q^4)}{\frac{3q^2(2q^2-1)}{\sqrt{q^2-1}} \tan^{-1}\sqrt{q^2-1} + 3}. \tag{28}$$

If $b \gg a$, both (27) and (28) reduce approximately to

$$\frac{\tau_a}{\tau_0} \cong \frac{\tau_b}{\tau_0} \cong \frac{2b}{a\,[3\tan^{-1} b/a]} \cong \frac{4b}{3\pi a} \tag{28a}$$

and substituting the value of τ_0 from (23)

$$\tau_a \cong \tau_b \cong \frac{16\eta b^3}{3kT} \cong \frac{1}{2\Theta_b} \cong \frac{1}{2\Theta_a}. \tag{28b}$$

Thus for a flattened ellipsoid, as b/a becomes infinite, both relaxation times become infinite, and the corresponding rotary diffusion constants approach zero. When b/a is very large, the relaxation times are proportional to the cube of the b semi-axis, and do not depend at all on the length of the a semi-axis.

For a flattened (oblate) ellipsoid, τ_a is always less than τ_b, but never differs from it by more than about 10 %, the ratio of the two relaxation times approaching unity as a/b approaches the value 1 (spheres) or zero (flat discs). Thus, if it can be established that a given molecule has two distinct relaxation times differing by considerably

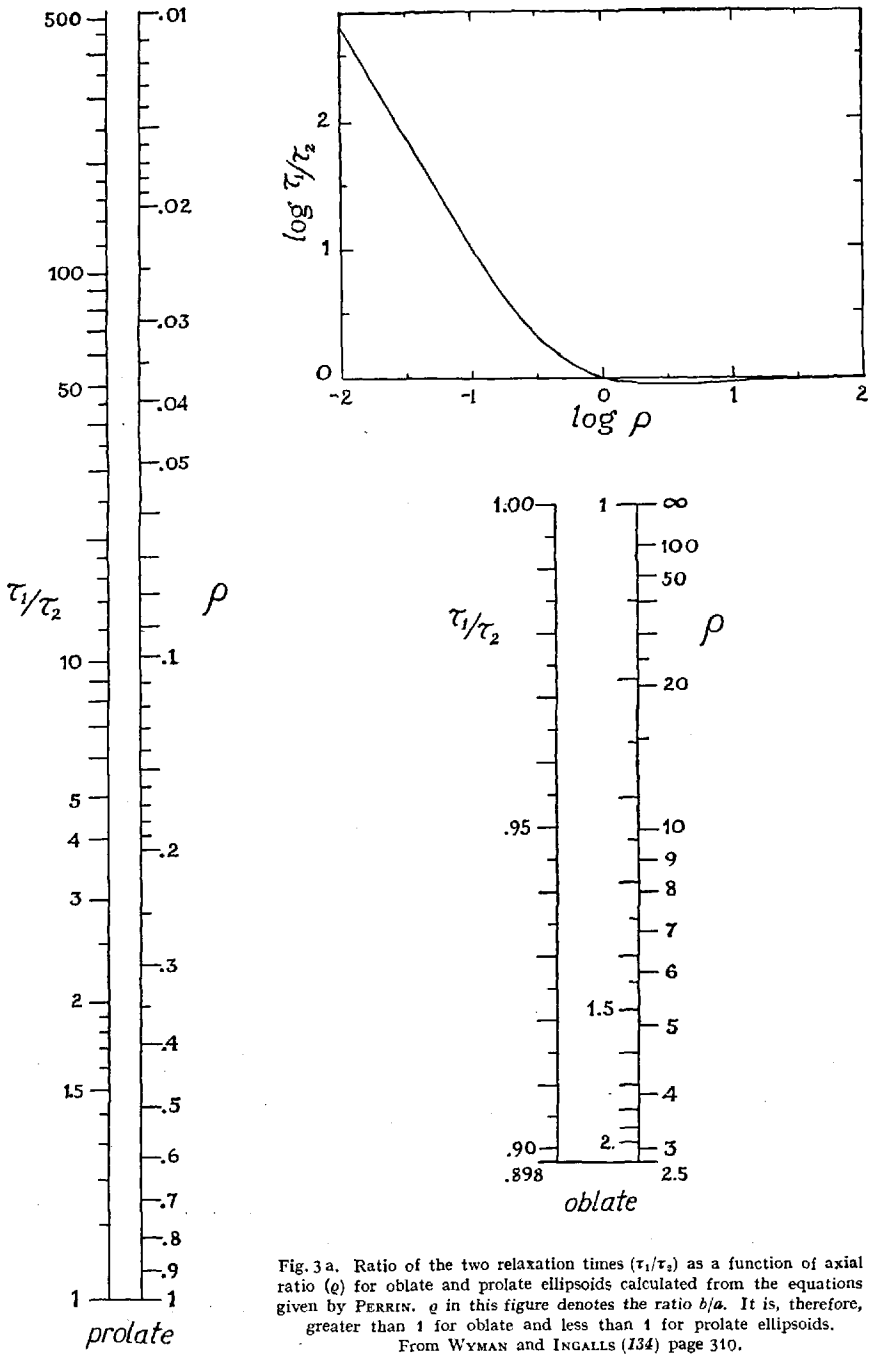


Fig. 3 a. Ratio of the two relaxation times (τ_1/τ_2) as a function of axial ratio (ϱ) for oblate and prolate ellipsoids calculated from the equations given by PERRIN. ϱ in this figure denotes the ratio b/a. It is, therefore, greater than 1 for oblate and less than 1 for prolate ellipsoids. From WYMAN and INGALLS (*134*) page 310.

more than 10%, the molecule cannot be represented by an oblate ellipsoid of revolution, and a prolate model must be assumed. The use of this criterion of shape will be considered further in connection

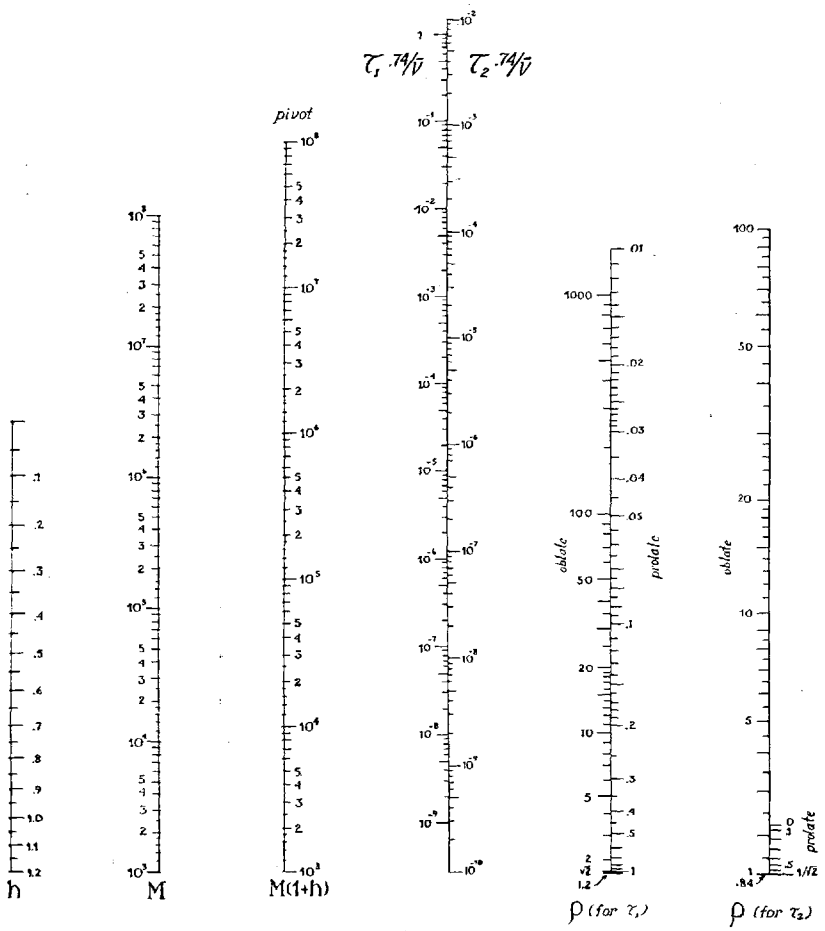


Fig. 3b. Nomogram for relaxation times (τ_1 and τ_2), axial ratio (ρ), molecular weigth (M), and hydration (h). Note that hydration is here expressed as volume fraction rather than in weight units as in most of the discussion in the text of the present review. Values of τ_1 and τ_2 are for 20°. From WYMAN and INGALLS (*134*), page 309.

with dielectric dispersion. The relations between the shape of the ellipsoid and the ratio of the two relaxation times are shown in Fig. 3a, taken from the work of WYMAN and INGALLS (*134*).

Fig. 3b, also taken from their work, gives a nomographic representation of the relation between the molecular weight, the two relaxation times and the axial ratio of oblate and prolate ellipsoids. In this figure M

denotes the molecular weight, h denotes the hydration, *expressed as volume fraction*, and τ_1 and τ_2 denote the relaxation times which we have denoted here as τ_a and τ_b respectively.

Double Refraction of Flow and Relaxation Times.

The production of birefringence in certain normally isotropic liquids through the action of shearing stress has long been known. Since the work of FREUNDLICH and his collaborators, beginning about 1915, the phenomenon has been recognized as arising from the orientation of asymmetric particles. Only recently, however, has the theory been developed adequately to permit calculation of molecular dimensions from the observed measurements. No attempt will be made to review all the earlier developments here; I have discussed some of them in two other reviews which have appeared in recent years (*26*), (*29*).

Double refraction of flow is observed when asymmetrical molecules, in a pure liquid or solution, are oriented in a velocity gradient. In general, the orientation is only partial, being opposed by the rotary Brownian movement. The phenomenon is most readily observed when the liquid is placed between two concentric cylinders, one of which is rotated while the other is held fixed. If the field between the cylinders is observed between crossed polarizers, with light traveling parallel to the cylinder axes, the flowing liquid appears optically like a uniaxial spherocrystal. The field is bright, except for four dark regions spaced like the arms of a cross (the "cross of isocline"). In these regions the optic axis of the solution is parallel to the plane of vibration of the light transmitted by either the polarizer or the analyzer. It is found experimentally that at very low velocity gradients the arms of the cross bisect these planes at 45°. As the gradient is increased, the position of the cross shifts, and at very high gradients approaches coincidence with the planes of vibration. The smaller of the two angles between these planes and an adjoining arm of the dark cross is known as the extinction angle, χ. Thus, χ tends from 45° at very low to 0° at very high gradients. At values near 45°, χ is a nearly linear function of the velocity gradient G, and the increment $-d\chi/dG$ increases very rapidly with increase in the major axis of the asymmetric particle being studied. At higher gradients, the χ-G curve of course becomes flatter, but the gradient required to achieve a given χ value is always much smaller for a long particle than for a short one.

It follows from the above definition, that χ is the angle between the stream lines and the optic axis in the flowing liquid — this axis being so defined as to be always between 45° and 0°, relative to the stream lines. The refractive index for light vibrating with electric

victor parallel to this axis is denoted by n_e; for light vibrating perpendicular to it, by n_0. The sign and magnitude of the double refraction is given by the value of $n_e - n_0$. In general, $n_e - n_0$ is a nearly linear function of G when χ is near 45°, and approaches a limiting saturation value as χ approaches 0°.

These phenomena can be interpreted in terms of molecular orientation by the velocity gradient in the flowing liquid, opposed by the rotary Brownian movement which produces disorientation and a tendency toward a purely random distribution. The intensity of this Brownian movement is charaterized by the rotary diffusion constants, Θ, discussed in the preceding section. The fundamental treatment of this problem, for very thin rod-shaped particles, was given by BOEDER (*5*); the treatment has been generalized, and extended to rigid ellipsoids of revolution of any axial ratio, by PETERLIN and STUART (*96*), (*98*), (*99*) and by SNELLMAN and BJÖRNSTÅHL (*121*). The main features of their treatment are as follows[1]:

The discussion will be restricted to molecules which can be described as ellipsoids of revolution. We shall denote the semi-axis of revolution by $\underline{a}$, the equatorial semi-axis by $\underline{b}$. The orientation of a molecule may thus be completely described by the orientation of the $\underline{a}$ semi-axis; the frame of reference is shown in Fig. 4. The center of the coordinate system is located in the center of gravity of the ellipsoid[2]. The velocity gradient in the liquid, indicated in Fig. 4, tends to rotate the molecule clockwise. The orientation of the $\underline{a}$ semi-axis of the molecule is specified by the angles ϑ and Φ, as defined in the figure and the accompanying legend.

Consider now a solution containing N molecules per cc., at a concentration sufficiently low that the orientation of any one is not influenced by that of the others. Then the number of molecules oriented in any given direction may be defined by a distribution function $\varrho(\vartheta, \Phi)$, such that the number of molecules, dN, with orientations lying within a given element

[1] We shall not attempt here to consider the behavior of molecules, of the type represented by many high polymers, which may be regarded as long flexible chains, capable of deformation by the stresses produced by the velocity gradient in the flowing liquid. Such systems have been considered in great detail by KUHN and KUHN (*60*), (*61*), (*62*), (*63*). Evidence from various sources, especially ultracentrifugal and dielectric dispersion measurements, indicates that most proteins are relatively rigid structures of fairly wide cross sections. This point is more fully discussed in the following section on dielectric dispersion.

[2] This center of gravity moves with the flowing liquid that surrounds it, but this translational motion is irrelevant to the orientation problem under discussion here, since the number of particles of any given orientation moving into the field of vision in any time interval is on the average equal to the number moving out in the same interval.

of solid angle $d\Omega$, is given by

$$dN = \varrho\, d\Omega = \varrho \sin\vartheta\, d\vartheta\, d\Phi\,. \tag{29}$$

The function ϱ, in rotary diffusion, is the analogue of the concentration, c, in translational diffusion. The variation of ϱ with time, in a system of the type under consideration, is exactly analogous to

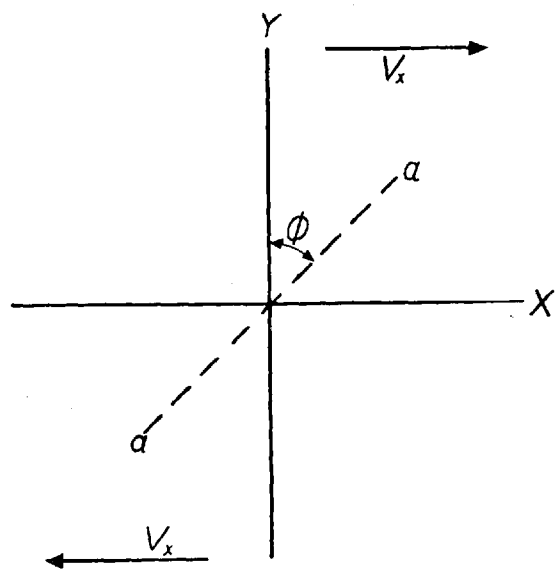


Fig. 4. Orientation of an ellipsoidal molecule in a flowing liquid of constant velocity gradient. The positive Z axis points perpendicularly upward from the plane of the paper. The projection of the axis of revolution of the ellipsoid on the XY plane is denoted by aa. The movement of the liquid is parallel to the X axis, and is described by the equation $V_x = G\,Y$, where V_x is the velocity and G is the velocity gradient. The significance of the angle Φ is shown in the figure ($\Phi = 90°$ when the a axis of the ellipsoid lies in the XZ plane). ϑ is the smaller of the two angles between the a axis of the ellipsoid and the positive Z axis. The origin is taken at the center of the ellipsoid. From EDSALL (29), page 518.

the variation of c with time in a system in which the molecules acquire a mean velocity V as a result of the action of an external force (*121*). In the latter case, the concentration obeys the differential equation:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c - \nabla\cdot(cV) \tag{30}^1$$

where D is the translational diffusion constant. Likewise, in the rotary diffusion problem, if the molecules acquire an angular velocity ω from

[1] In equations 30 and 31 ∇^2 denotes the Laplacian operator; in Cartesian co-ordinates,

$$\nabla^2 = \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2}$$

and $\nabla\cdot$ denotes the divergence.

the action of the velocity gradient, then the time derivative of the distribution function ϱ is described by the equation:

$$\frac{\partial \varrho}{\partial t} = \Theta V^2 \varrho - V \cdot (\varrho\, \omega)\,. \tag{31}$$

If the rotating cylinder could be brought suddenly and smoothly to rest, the second term on the right would vanish, and the resulting equation would describe the process of disorientation, by free rotary diffusion, of the molecules which had previously been partly oriented by the flow. The speed of disorientation is proportional to the rotary diffusion constant, Θ, and the final steady state of random distribution corresponds to the equation $\varrho = \text{const.} = N/4\pi$.

In the flowing liquid, after a steady state has been attained[1], ϱ does not vary with time $\left(\frac{\partial \varrho}{\partial t} = 0\right)$. For the steady state, then, equation (31) becomes, in spherical polar coordinates,

$$\left.\begin{aligned} \Theta\left(\frac{\partial^2 \varrho}{\partial \vartheta^2} + \operatorname{ctn}\vartheta \frac{\partial \varrho}{\partial \vartheta} + \frac{1}{\sin^2\vartheta}\frac{\partial^2 \varrho}{\partial \Phi^2}\right) \\ = \frac{1}{\sin\vartheta}\frac{\partial}{\partial \vartheta}(\sin\vartheta \cdot \varrho\, \omega_\vartheta) + \frac{1}{\sin\vartheta}\frac{\partial (\varrho\, \omega_\Phi)}{\partial \Phi}\,. \end{aligned}\right\} \tag{32}$$

The components of ω, ω_ϑ and ω_Φ due to the velocity gradient, have been evaluated for ellipsoids of revolution by JEFFERY (*55*) from the fundamental equations of hydrodynamics:

$$\omega_\vartheta = \frac{d\vartheta}{dt} = \frac{p\,G}{2}\sin\vartheta\cos\vartheta\sin 2\Phi\,, \tag{33}$$

$$\omega_\Phi = \frac{d\Phi}{dt}\sin\vartheta = \frac{G}{2}\sin\vartheta\,(1 + p\cos 2\Phi)\,. \tag{34}$$

Here p is a function of the axial ratio (a/b) of the ellipsoid:

$$p = \frac{a^2 - b^2}{a^2 + b^2}\,. \tag{35}$$

Thus $p = 1$ for an infinitely thin rod, zero for a sphere, and -1 for a flat disc.

If the values of ω_ϑ and ω_Φ from (33) and (34) are substituted in (32), a differential equation for the function ϱ is obtained, for which a general solution by expansion in an infinite series has been obtained by PETERLIN (*96*), (*98*), (*99*). The solution is best expressed with the aid of the parameter $\sigma = G/\Theta$, the ratio of velocity gradient to rotary diffusion constant. The general solution is very complex, and the terms converge slowly; but for low values of σ an adequate treatment

[1] The time required to attain the steady state has been calculated by PETERLIN (*96*), (*98*), (*99*). It is very brief — of the order of a few seconds or less — for all molecules of the order of magnitude with which we shall be concerned here.

is obtained from the first terms of the expansion:

$$\left.\begin{aligned}\varrho(\vartheta,\Phi)_{\sigma\to 0}=\frac{N}{4\pi}\Big(1+\frac{\sigma p}{4}\sin^2\vartheta\sin 2\Phi-\frac{\sigma^2 p}{8}\times\\ \times\Big[\cos 2\Phi\sin^2\vartheta+\frac{p}{8}\Big(\cos 4\Phi\sin^4\vartheta-\sin^4\vartheta+\frac{8}{15}\Big)\Big]\Big).\end{aligned}\right\} \tag{36}$$

At very small values of σ, the maximum value of $\varrho\left(\varrho=1+\frac{\sigma p}{4}\right)\frac{N}{4\pi}$ occurs at $\vartheta=90°$, $\Phi=+45°$, the minimum $\left(\varrho=1-\frac{\sigma p}{4}\right)\frac{N}{4\pi}$ at $\vartheta=90°$, $\Phi=-45°$; if $\vartheta=0°$—that is, if the axis of revolution of the molecule is parallel to the axis of the cylinders—ϱ has an intermediate value, $\varrho=N/4\pi$.

Thus a small volume element of the flowing liquid has the optical symmetry of an orthorhombic crystal, with three different refractive indices corresponding to the three different ϱ values in the indicated directions. However, only the two refractive indices which lie in the XY plane have ever been experimentally observed.

As σ increases, the maximum value of ϱ remains in the plane $\vartheta=90°$, but the value of Φ for maximum ϱ shifts over toward $\Phi=90°$; that is, toward the direction of the stream lines. Also, as σ increases, the height of this maximum increases—that is, the number of molecules whose a axes lie in or near the most favored orientation becomes steadily greater as the orienting forces increase relative to the disorientation produced by Brownian movement.

Approximately, the experimentally observed extinction angle, χ, is the angle between the stream lines (X axis in Fig. 4) and the maximum value of ϱ; and the observed double refraction (n_e-n_0) depends on the height of this maximum, relative to the minimum ϱ value which is found to lie at right angles to it in the XY plane. The absolute value of n_e-n_0 also depends on the optical anisotropy of the molecule, and on the relative refractive indices of the molecule and the solvent.

More precisely, χ is determined by the equation (χ in radians):

$$-\tan 2\chi=\frac{\int_0^{\pi}\int_0^{2\pi}\varrho\sin^3\vartheta\sin 2\Phi\,d\vartheta\,d\Phi}{\int_0^{\pi}\int_0^{2\pi}\varrho\sin^3\vartheta\cos 2\Phi\,d\vartheta\,d\Phi}. \tag{37}$$

For χ values near $\pi/4$ radians this becomes

$$\tan 2\chi=6/\sigma=6\Theta/G \tag{38}$$

and hence

$$\frac{\pi}{4}-\chi=\frac{\sigma}{12}\Big(1-\frac{\sigma^2}{108}\Big(1+\frac{24\,p^2}{35}\Big)+\cdots\Big). \tag{39}$$

The double refraction in the flowing solution is the product of an orientation factor $f(\sigma, p)$ and an optical factor:

$$\left.\begin{aligned} n_e - n_0 &= \frac{2\pi F}{n_s}(g_1 - g_2)\cdot f(\sigma, p) \\ &= \frac{2\pi F}{n_s}(g_1 - g_2)\frac{\sigma p}{15}\left(1 - \frac{\sigma^2}{72}\left(1 + \frac{6p^2}{35}\right) + \cdots\right). \end{aligned}\right\} \tag{40}$$

Here F is the volume fraction of the solute molecules, n_s the refractive index of the solution at rest, $g_1 - g_2$ an optical factor which depends only on the geometry of the solute molecule and the refractive indices of solvent and solute, and $f(\sigma, p)$ is the orientation factor.

Experimental Methods. Double refraction of flow has been most commonly observed by placing the liquid between coaxial cylinders, one of which is rotated while the other is held fixed. Other methods of observation have also been used; for instance, by forcing the liquid through a capillary tube and observing the double refraction with a beam of light perpendicular to the axis of the tube. However, observation by this method does not permit determination of the extinction angle. Moreover, the velocity gradient varies across the tube, from zero at the center to a maximum at the walls. Hence this, though a useful method for qualitative observations, is not well suited for quantitative studies. For very elongated molecules, it is possible to observe double refraction qualitatively by placing the liquid to be studied in a beaker between crossed polaroid discs and stirring with an opaque rod. This method was used, for instance, by EDSALL and MEHL (*34*) in studies of the action of various denaturing agents which produced destruction of double refraction of flow in myosin. LANGMUIR (*64*) studied bentonite sols by sealing samples in glass tubes containing some air. The tubes were tilted so that air bubbles passed slowly through the liquid; then placed in a rack and observed between crossed polaroids. LANGMUIR thus studied the decay of birefringence with time and obtained evidence concerning relaxation times in these systems.

However, all these methods are of minor importance compared with those employing the coaxial cylinder apparatus. It is essential, if significant results are to be obtained by the use of such apparatus, that the flow should be laminar, not turbulent. The importance of avoiding turbulent flow in this connection was first emphasized by SADRON (*103*); some earlier workers had unwittingly made studies under conditions in which turbulent flow had been present. From the point of view of maintaining laminar flow up to high velocity gradients, there is a great advantage in choosing the outer cylinder as the rotor, as shown by the important studies of G. I. TAYLOR (*125*), (*126*), (*127*). Both theory and experiment showed that if the inner cylinder rotates, while

the outer one is fixed, the critical angular velocity Ω_c is given by the equation:

$$\frac{\Omega_c^2}{(\eta/\varrho)^2} = \frac{\pi^4}{2P} \frac{(R_1 + R_2)}{\underline{d}^3 R_1^2}. \tag{41}$$

Here η is the viscosity of the liquid, ϱ its density, R_1 and R_2 are the radii of the inner and outer cylinders, respectively, and $\underline{d}$ is $R_2 - R_1$, the width of the gap between them. P is a numerical factor given by the equation:

$$P = 0.0571\,(1 - 0.652\,\underline{d}/R_1) + \frac{0.00056}{1 - 0.652\,\underline{d}/R_1}. \tag{42}$$

This means in practice that if the gap between the cylinders is small ($\underline{d} \ll R_1$), the critical angular velocity above which turbulent flow occurs is very nearly inversely proportional to the three-halves power of the gap. It is also directly proportional to the viscosity of the liquid. Concerning possible limitations of formula (41), see BUCHHEIM, STUART and MENZ (*11*).

If, on the other hand, the outer cylinder rotates and the inner one is fixed, TAYLOR's theoretical analysis (*125*), (*126*), (*127*) led to the conclusion that flow should be laminar at all speeds of rotation, and his experiments, at the highest speeds he then attained, were in harmony with this conclusion. In a later study, however, TAYLOR (*125*), (*126*), (*127*) was able to produce turbulent flow with the outer cylinder rotating, but only at much higher speeds than when the inner cylinder was the rotor. The ratio of the critical speeds was a function of $\underline{d}/R_2$; for $\underline{d}/R_2 = 0{,}38$ the ratio was over 1000; for $\underline{d}/R_2 = 0{,}1$ it was about 50; for $\underline{d}/R_2 = 0{,}017$ it was 6. There is thus a great theoretical advantage, if turbulent flow is to be avoided, in making the outer cylinder the rotor, although this adventage becomes less marked as the gap between the cylinders is narrowed.

Actually, most investigators, when working at high velocity gradients, have made the inner cylinder the rotor. It is easier, with this arrangement, to hold the rotor in place with suitable bearings, so that it rotates steadily about its axis even at high speeds. Also, it is important, since measurements should be made at constant temperatures, that water from a thermostat should be kept circulating around the outer cylinder. This is most easily achieved if the outer cylinder is fixed.

However, if the measurements are to be made at low gradients, with a gap of more than 1 or 2 mm. between the cylinders, it is almost imperative that the outer cylinder should be the rotor, as in the work of VON MURALT and EDSALL (*128*), (*129*). Otherwise, unless the solution is very viscous, turbulent flow sets in at speeds so low as to limit gravely the usefulness of the apparatus. We have used for some years a very compact portable concentric cylinder apparatus, with rotating outer

cylinder[1]; which was employed by MEHL (*73*) in his studies on myosin, and has been used by us since for studies on very elongated molecules, of length near 2000 A or more. It is not suitable for studies on shorter molecules; even fibrinogen (700 A long) cannot be effectively oriented in this apparatus.

The velocity gradient in the flowing liquid, at the distance r from the center of the inner cylinder is (if the outer cylinder rotates with angular velocity Ω):

$$G = \frac{dV}{dr} = 2\Omega \frac{1/r^2}{\frac{1}{R_1^2} - \frac{1}{R_2^2}} \tag{43}$$

where R_1 and R_2 have the same meaning as in equations (41) and (42), and V is the velocity of the liquid at the point considered.

If the inner cylinder rotates with angular velocity Ω, the velocity gradient is:

$$G = \frac{dV}{dr} = \frac{\Omega R_1^2}{R_1^2 - R_2^2}\left(1 + \frac{R_2^2}{r^2}\right). \tag{44}$$

If $d \ll R_1$ ($d = R_2 - R_1$), these equations both approximate closely to the simple relation:

$$G \cong \frac{R_1 \Omega}{d} \cong \frac{R_2 \Omega}{d}. \tag{45}$$

Under these conditions G is practically the same at all points in the liquid. For the derivation of (43) and (44), see for instance PAGE (*89*) or HATSCHEK (*52*). The dimensions of G are t^{-1}; it is commonly expressed in sec^{-1}.

In an earlier review (*26*) I have discussed in some detail the apparatus used by various earlier authors and I shall not attempt to repeat those data here. A diagram of our own concentric cylinder apparatus (33) is shown in Fig. 5. This differs from the arrangement employed by most other authors in the mounting of the inner cylinder. The long shaft (Q) with two sets of preloaded bearings (G, G' in the diagram) maintains the inner cylinder accurately concentric with the outer one over a wide range

[1] Designed by J. W. MEHL and J. T. EDSALL; constructed by DAVID W. MANN, Lincoln, Massachusetts. Details of construction are to be published shortly.

Fig. 5. Cross-section of the concentric cylinder apparatus of EDSALL, GORDON, MEHL, SCHEINBERG and MANN (*33*). The inner cylinder A is the rotor. The outer cylinder B, the stator, is surrounded by the water jacket, O, with circulating water. H and N are isotropic glass windows inserted in the optical path. The light passes down through a hole in the housing of the drive shaft of the outer cylinder above H. The liquid to be studied flows in through a glass tube surrounded by a rubber stopper inserted in the lower hole F. The liquid flows in by gravity and excess liquid spills over through the outlet at J. After the space is filled with liquid, the inlet tube below F is clamped off. The gap between the inner and outer cylinders is 0.25 mm., the cylinders proper are made of a special variety of stainless steel (Carpenter MO-4) which is particularly inert to protein solutions. For the design of the preloaded bearings G, G' and for other mechanical details, see the original paper (*33*), from which this figure was taken, page 244.

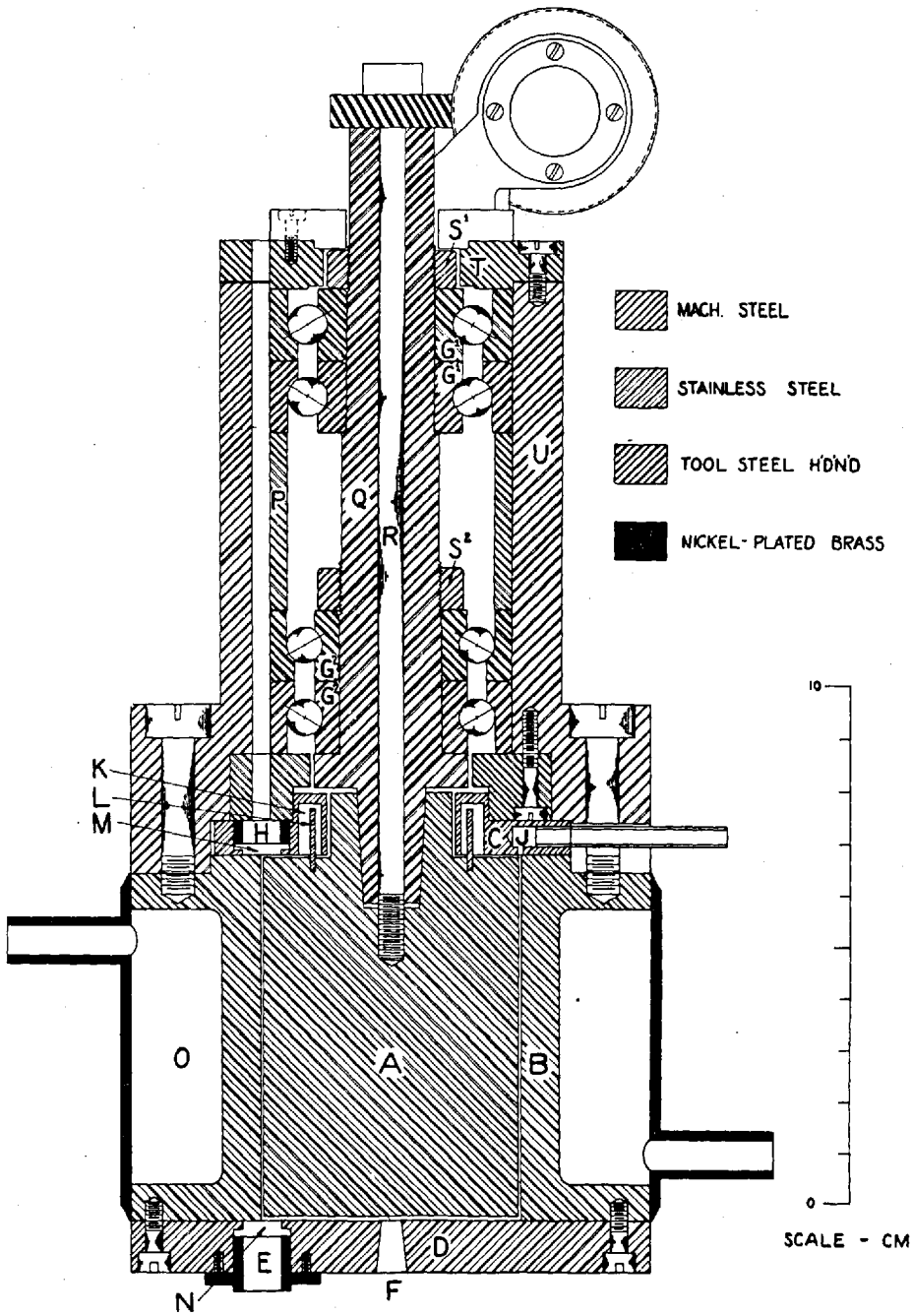

MACH. STEEL
STAINLESS STEEL
TOOL STEEL H'D'N'D
NICKEL-PLATED BRASS
S'
T
G
G
U
P
Q
R
S²
G
G
K
L
M
H
C
J
O
A
B
E
D
F
N
10
0
SCALE - CM

Fig. 5.

of velocity gradients. The apparatus may be driven at speeds ranging from 100 to 3000 r. p. m., giving gradients from 1000 to 30.000 sec^{-1}. The cylinders are mounted with axis vertical, the light source being above, with the condensing lens, polarizer and light filter below it and above the cylinders. The analyzer and the observing telescope are situated beneath the cylinders. The polarizer and analyzer can be rigidly coupled be means of a brass connecting rod, for measurements of extinction angle, so that they can be turned in unison, or the coupling may be removed so that they can be set quite independently, which is necessary for measurements of phase difference. The light source described in our published article was a high pressure mercury arc, type H3, made by the General Electric Company. More recently we have employed a so-called "concentrated arc lamp" with a zirconium arc, manufactured by the Western Union Telegraph Company. The latter has the advantage of being practically a point source which is very intense, so that an almost perfectly parallel beam of light can readily be obtained. The spectrum emitted by the concentrated arc lamp is continuous. We have used an interference type of filter which transmits only a very narrow region of the spectrum in the green region near 550 mμ for the double refraction measurements. The double refraction itself is measured by a Senarmont compensator with a half-shadow wedge. The details are given by EDSALL, GORDON, MEHL, SCHEINBERG and MANN (*33*). [Compare also the earlier procedure of VON MURALT and EDSALL (*128*), (*129*).]

Other types of concentric cylinder apparatus have been described by SIGNER andGROSS (*118*), SADRON (*102*), (*103*), NITSCHMANN and GUGGISBERG (*78*), (*79*), and DE ROSSET (*24*). The apparatus of SNELLMAN and BJÖRNSTÅHL (*121*) appears to be more closely similar in design to our own than any of the others, but these authors did not specify the exact dimensions of the cylinders or give full details of construction in their published report. Like DE ROSSET, they operated the cylinders with the axis of rotation horizontal, whereas all the other authors mentioned, like ourselves, have mounted the cylinders in the vertical position. LAWRENCE, NEEDHAM and SHEN (*67*) have described an apparatus intended for measurements at somewhat lower velocity gradients, but having the advantage that it can be used for simultaneous measurements of viscosity and double refraction of flow on the identical solution.

When the gap between the cylinders is very narrow, the difficulties in the optical measurements are much increased. Reflected light from the cylinder walls can become very disturbing, giving rise to depolarization and falsification of the measurements. The methods employed by BJÖRNSTÅHL (*4*) in dealing with this problem should be carefully considered by any investigator considering the design of apparatus for studies at high velocity gradients.

Experimental Results. As yet, relatively few data which permit the calculation of molecular lengths are available on protein solutions. MEHL (*72*) studied a sample of tobacco mosaic virus which had been prepared under conditions leading to considerable aggregation. The calculated molecular length of about 7000 A which he obtained was in reasonably good agreement with the expected lengths of the aggregated molecules. The earlier data of VON MURALT and EDSALL (*128*), (*129*) and the later data of MEHL (*73*) on the myosins [1] of various animal species led to very great estimated lengths, of the order of 10.000 A or more. However, it was apparent also from these data that the solutions were highly polydispersed and that the double refraction of flow measurements at low velocity gradients measured primarily the longest particles present in the preparations [2]. A direct check on these inferences has been provided by the electron microscope studies of HALL, JAKUS

Table 2. *Dimensions of certain protein molecules from sedimentation and diffusion, viscosity, and double refraction of flow.*

Protein	Mol. wt. *	a/b **	Length from f/f_0, A	Length from double refraction of flow, A ***
Helix hemocyanin	$8.9 \cdot 10^6$	8	1130	820
	$4.3 \cdot 10^6$	7.5	820	890
	$1 \cdot 10^6$	15	820	960
Horse antibody globulin .	$9 \cdot 10^5$	20	960	1280
Human fibrinogen	$5 \cdot 10^5$	18	700	700
Human serum γ-globulin .	$1.6 \cdot 10^5$	5	235	230
Human serum albumin. .	$7 \cdot 10^4$	4	150	190
Zein	$5 \cdot 10^4$	16	320	350

* Hemocyanin from BROHULT (*9*); horse antibody globulin from KABAT (*56*); human blood proteins from COHN, ONCLEY, STRONG, HUGHES and ARMSTRONG (*17*); ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*); zein, see SVEDBERG and PEDERSEN (*122*) or COHN and EDSALL (*16*); present revised value from FOSTER and EDSALL (*41*).

** Values of a/b, and of length derived from them, are from sedimentation and diffusion, or viscosity, data as indicated in these papers. All these molecules are assumed to be prolate, rather than oblate, ellipsoids in calculating the lengths. The weight of the evidence is not sufficient to decide this point completely in all these cases, but does make the assumption highly probable [see ONCLEY in reference (*16*), pages 560—568].

*** First four values from SNELLMAN and BJÖRNSTÅHL (*121*); fibrinogen from EDSALL, FOSTER and SCHEINBERG (*32*); serum albumin and globulin from EDSALL and FOSTER (*31*); zein from FOSTER and EDSALL (*41*). The zein preparations studied were all polydisperse, containing some molecules of length greater than 400 A, and others probably shorter than 300 A. The value given, therefore, indicates only a number lying between these upper and lower limits.

[1] The protein denoted as myosin in these papers would be considered as a form of actomyosin in the terminology of SZENT-GYÖRGYI (*123*), (*124*).

[2] Concerning double refraction of flow in polydispersed systems, see SADRON (*104*), SADRON and MOSIMANN (*105*) and PETERLIN and STUART (*97*).

and SCHMITT (*51*) who prepared myosin by the method of GREENSTEIN and EDSALL (*48*). The myosin filaments from such extracts, when examined in the electron microscope after drying, had fairly uniform widths 50 to 250 A, but highly varying lengths ranging up to 15.000 A. The average lengths were considerably below 10.000A, but sufficient quantities of the longer filaments were present to account for the effects observed in double refraction of flow.

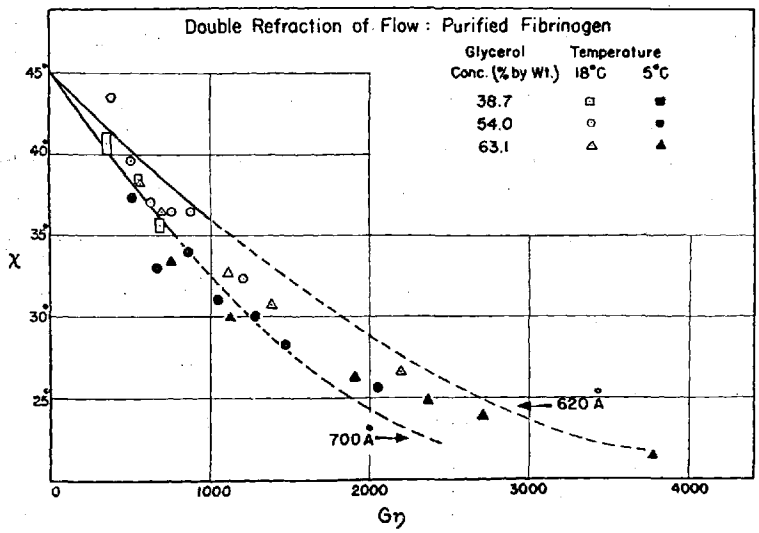


Fig. 6. Double refraction of flow in purified fibrinogen; measurements at three glycerol concentrations. Theoretical curves for ellipsoidal molecules 620 and 700 A long are shown for comparison with experimental points. From EDSALL, FOSTER and SCHEINBERG (32), page 2734.

The data obtained on various proteins of moderate asymmetry are reported in Table 2. It should be noted that the zein preparations are highly polydispersed; the others, while for the most part not strictly monodispersed, are fairly uniform, consisting chiefly of a single component, by ultracentrifugal and electrophoretic measurements, except for hemocyanin, which exists in three different sizes, as indicated. Sedimentation, diffusion and viscosity measurements have been carried out on all of these proteins and in general the agreement between the different methods is reasonably satisfactory.

Fibrinogen. Some of the experimental χ measurements on fibrinogen solutions are shown in Fig. 6. EDSALL, FOSTER and SCHEINBERG (*32*) had given a critical discussion of the available data on this protein from sedimentation, diffusion, viscosity and double refraction of flow, making use of the nomogram of WYMAN and INGALLS (*134*), to consider the compatibility of the various data. They concluded that a molecular weight between 400.000 and 500.000 and a prolate ellipsoidal model 700 A long

and 38 A in cross-section would fit all the data reasonably well. However, the data were also compatible with a disc shaped model 350 A in diameter and about 10 A thick. Although such a model seemed physically implausible, it could not be definitely excluded. However, the electron microscope studies of HALL (*50*) on bovine and human fibrinogen preparations, do appear to point definitely to the rod-shaped type of structure. Many of the fibrinogen molecules in the preparations observed by HALL were approximately 700 A long, but considerable numbers of both shorter and longer molecules were observed. The cross-section of 38 A inferred from the other measurements appeared to agree satisfactorily with the electron microscope observations. The heterogeneity in length of the preparations studied by HALL may be due to alterations produced on drying, or the fact that these preparations had been made some time before and had been preserved in the dry state for a considerable period.

Relaxation Times from Dielectric Dispersion Measurements.

Studies of the dispersion of the dielectric constant, especially those of ONCLEY (*81*), (*83*), (*84*), have yielded most of the data now available on the relaxation times of proteins. Measurements already obtained, expressed as τ values in water at 25°, range from about 10^{-8} sec. for insulin, to about $250 \cdot 10^{-8}$ sec. for the longer relaxation times of edestin and horse serum γ-pseudoglobulin. Relaxation times between 10^{-9} and 10^{-11} sec. have been determined for a number of peptides and amino acids. Thus a range of more than 10^5 in relaxation times has been covered in studies already reported. Further extension of the method to longer relaxation times, involving measurements at lower frequencies, is now being carried on by Dr. ONCLEY and his associates.

The possibility of making use of dielectric measurements for the study of the relaxation times is largely dependent on the very polar nature of amino acids, peptides and proteins. We must therefore discuss briefly the relation between dielectric constant and dipole moment in polar liquids, the discussion being for the moment restricted to static fields, or fields of frequency small compared to the rotary diffusion constants of the molecules.

Dipole Moments and Dielectric Increments of Amino Acids, Peptides and Proteins. Dielectric constants of solutions of amino acids, peptides and proteins always are higher than those of the pure solvent, even when the solvent is a liquid as polar as water[1]. In dilute solution the dielectric constant, ε, is a linear function of the solute concentration, c

$$\varepsilon = \varepsilon_s + \delta c \qquad (46)$$

[1] This is true when the dielectric constant is measured at sufficiently low frequencies. Variation of dielectric constant with frequency is discussed below.

and this equation is frequently valid up to c values of several mols/liter. The dielectric increment, δ, is a function of the polarity of the solute; for amino acids and peptides it is nearly a linear function of the number

Table 3. *Dipole moments and relaxation times of amino acids and peptides.*

Substance	Dielectric Increment, δ	Dipole Moment, in Debye Units	Relaxation time τ $H_2O \cdot 10^{11}$	τ calculated for rigid sphere $\tau_0 \cdot 10^{11}$
Glycine	23	15.5	4.9	6.2
α-Alanine	23	15.5	6.4	7.9
β-Alanine	35	19.5	6.7	7.9
ε-Aminocaproic Acid	77	28.9	12.9	13.2
Glycylglycine	70	27.6	11.4	10.1
Triglycine	113	35.1	18.1	14.0
Tetraglycine	159	41.6	24.7	17.0
Pentaglycine	213	48.4	36.3	21.9
Hexaglycine	234	50.0	—	—
Lysylglutamic acid	345	61.3	48	22.8

Values of δ from the more extensive tables given by WYMAN (*131*) and EDSALL (*28*). [See also CONNER, CLARKE and SMYTH (*18*)]. Values of moment calculated from δ values by equation (*49*). Relaxation times from BATEMAN and POTAPENKO (*1*), CONNER and SMYTH (*19*) and MARCY and WYAMN (*68*). [See also ONCLEY (*84*).]

Table 4. *Dielectric increments, dipole moments, relaxation times, and calculated axial ratios of certain proteins at 25°.*

Protein	$\Delta \varepsilon_{t/g}$	Mol. Wt.	μ	τ $H_2O \cdot 10^8$	$\tau_0 \cdot 10^8$	a/b
Egg Albumin	0.17	45.000	250	18; 4.7	3.7	5
Horse Serum Albumin (carbohydrate free)	0.24	70.000	380	36; 7.5	6.0	6
Horse CO-Hemoglobin	0.42	67.000	480	8.4	(6.6)	(1.6)
Pig CO-Hemoglobin	0.3	(67.000)	(410)	13		
Horse Serum Pseudoglobin	1.14	142.000	1100	250; 28	22	9
Insulin	0.38	40.000	360	1.6		
β-Lactoglobulin	1.58	40.000	730	15; 5.1	4.3	4
Edestin	0.8	310.000	1400	240; 27	21	9
Gliadin	0.10	42.000	190	27; 3.8	3.1	8
Secalin	1.0	24.000	440	29; 2.7	2.1	10
Zein	0.45	40.000	380	24; 4.2	3.3	7
Myoglobin	0.15	17.000	170	2.9	1.45	(2.6)

$\Delta \varepsilon_{t/g}$ = dielectric increment per gm. protein per liter; μ = dipole moment in debye units; τ H_2O is the relaxation time in water at 25° (correcting for the relative viscosity of water and the solvent actually employed); τ_0 = relaxation time of a sphere, of volume equal to that of the protein, in water at 25°; a/b = ratio of major to minor axis, calculated from τ_0 and observed relaxation times, by the equations of PERRIN (*92*) [COHN and EDSALL (*16*)], neglecting hydration.

Insulin was studied in 80 per cent propylene glycol; lactoglobulin in $M/2$ and $M/4$ glycine in water; edestin in 2 M glycine in water; gliadin in 56% aqueous ethanol; secalin in 54% ethanol; zein in 72% ethanol; other proteins in water. This table is adapted from ONCLEY (*83*), COHN and EDSALL (*29*).

of atoms in the chain separating the charged $-NH_3^+$ and COO^- groups. Some typical dielectric increment values are given for amino acids and peptides in Table 3, and for proteins in Table 4.

Qualitatively, it is clear that the δ values are correlated with the dipole moments of the solute molecules. For α-amino acids, electric moments may be approximately estimated on the assumption that a charge $+\underline{e}$ ($\underline{e} = 4.8 \cdot 10^{-10}$ e. s. u.) is concentrated at the N atom of the $-NH_3^+$ group, and a charge $-\underline{e}$ is located midway between the two oxygens of the COO^- group[1]. Consideration of a space model of an α-amino acid [see COHN and EDSALL (*16*), Chapters 6 and 14] indicates that the distance between the two charges is very nearly 3 A, giving a moment of $3 \cdot 4.8 \cdot 10^{-18} = 14.4 \cdot 10^{-18}$ e. s. u. $= 14.4$ Debye units.

Dipole moments may also be derived by a consideration of the dielectric constant data themselves. Since amino acids and proteins are soluble only in polar solvents, the treatment which is applicable to dilute solutions of polar molecules in a non-polar medium cannot be applied here. However, the general theory of polar liquids developed by ONSAGER (*87*) and KIRKWOOD (*57*) [see also KIRKWOOD in COHN and EDSALL (16), Chapter 12], is applicable here. According to KIRKWOOD's treatment, the dipole moment (μ) of an individual molecule in the liquid is in general different from its moment in the gaseous state (μ_0) because the attractions of neighboring polar molecules alter its configuration. Conversely, the neighbors of any given molecule are affected by it; their orientation with respect to its electric moment is generally not random, because electrostatic forces and steric factors prevent them from rotating freely. This tendency for the molecules to interact is expressed by KIRKWOOD in terms of a total electric moment, $\bar{\mu}$, which represents not only the moment of a given individual molecule, but is the vector sum of this moment plus the moments of all the neighboring molecules in the liquid. Only the first two or three shells of neighboring molecules need to be considered in evaluating this sum; more distant molecules may be regarded as distributed at random with respect to the molecule under consideration. If the immediate neighbors are also distributed at random $\bar{\mu}$ becomes equal to μ. In general, however, the two quantities may be different, both in magnitude and in direction. KIRKWOOD's analysis for highly polar liquids leads to the following relation between the dielectric constant, ε, and the molar polarization, P, of the liquid.

$$\varepsilon - 1 = \frac{9P}{2V} = 6\pi \frac{N}{V}\left(\alpha_0 + \frac{\mu\bar{\mu}\cos\vartheta}{3KT}\right). \tag{47}$$

[1] In the ionized COO^- group, the negative charge, because of resonance, is distributed equally between the two oxygen atoms, and the locus of the charge is therefore taken as midway between them.

Here V is the molal volume of the liquid, N is AVAGADRO's number, K the BOLTZMANN constant, T the absolute temperature, and ϑ is the angle between the vectors μ and $\overline{\mu}$. α_0 is the polarizability of the molecules in the liquid; it can be determined from the refractive index. For highly polar substances α_0 is small compared to the second term in the parenthesis. The high dielectric constant of water is well accounted for by equation (47) on the basis of the known dipole moment of water, and the orientation of the water molecules relative to one another. The molar polarization of the liquid is defined in terms of the polarizability and the dipole moment of the molecules by equation (47). In a solution containing several components equation (47) becomes

$$\varepsilon - 1 = \tfrac{3}{2}\,(C_1 P_1 + C_2 P_2 + \cdots) \qquad (48)$$

where C_1, $C_2 \ldots$ are the concentrations of components 1, 2, ... expressed in mols per cc.

Equation (48) is directly applicable to solutions of amino acids or proteins in which there are two components, protein (or amino acid) and water. When the solute is dissolved in water, the polarization of the mixture is somewhat decreased by the displacement of some water molecules, but the effect of this displacement is far more than counterbalanced by the extremely high polarization due to the solute molecules themselves. Neglecting the decrease in polarization due to the displacement by the water, a simple relation may be obtained between the dielectric increment δ of the amino acid and the quantity $\mu\,\overline{\mu}\cos\vartheta$.

$$\mu\,\overline{\mu}\cos\vartheta = 10.9\,\delta\,. \qquad (49)\,[1]$$

Thus for glycine for which δ equals 22.6, $\mu\,\overline{\mu}\cos\vartheta$ is 246, μ and $\overline{\mu}$ being expressed in Debye units. If we define a mean amount μ_m by the relation $\mu_m^2 = \mu\,\overline{\mu}\cos\vartheta$ then $\mu_m = 15.7$ for glycine. This value is only slightly different from the value of 14.4 estimated from the consideration of a space model. The dipole moments of amino acids and peptides with a larger separation between the charged amino and carboxyl groups, increase approximately in proportion to the square root of the number of atoms separating the groups carrying the electric charge. This can be interpreted on the basis of a statistical argument, for the mean square distance between the ends of the chain should be approximately proportional to the number of atoms in the chain, if there is more or less free rotation around the valence bonds [KUHN (*59*); KUHN and KUHN (*61*)]; and the dipole moment is proportional to the square root of this mean square distance. The very high value for lysyl glutamic acid (Table 4) is due to the fact that this molecule contains two positive charges near

[1] For the details of the derivation of (49) from (48) see KIRKWOOD in COHN and EDSALL (*16*) pages 294—296.

one end and two negative charges near the other end, with a wide distance of separation between them.

The dipole moments calculated for the protein molecules in Table 4 are extremely large in comparison with those of ordinary polar molecules. However, they are very small in comparison with the maximum conceivable dipole moments which these proteins might exhibit if all the

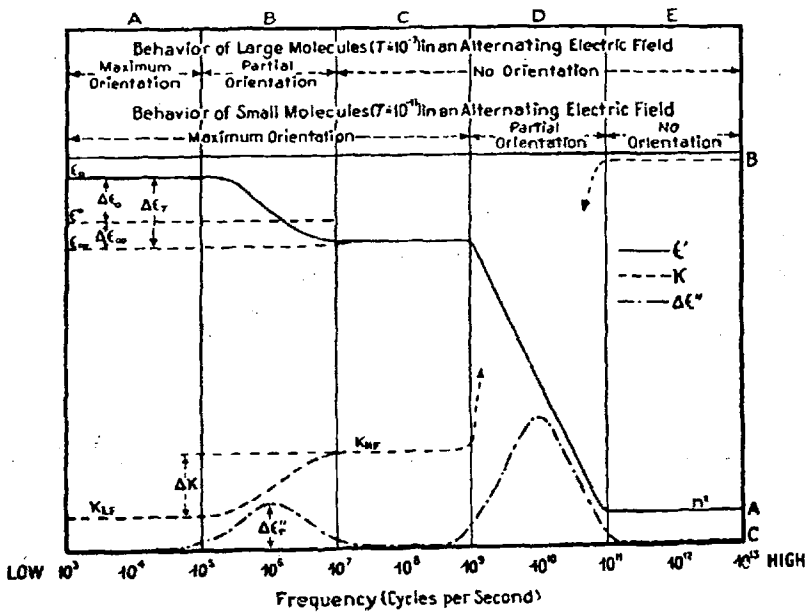


Fig. 7. Schematic diagram of anomalous dispersion of the dielectric constant (ε'), the specific conductivity ($\varkappa$), and the dielectric absorption ($\Delta\varepsilon'' = 1.80\ [\varkappa - \varkappa_0]/\nu$) for two widely separated critical frequencies. From J. SHACK, Ph. D. dissertation, Harvard University (1939). See also J. L. ONCLEY, J. D. FERRY, and J. SHACK: Ann. New York Acad. Sci. **40**, 371 (1940).

positive charges were concentrated near one end of the molecule and all the negative charges near the other. On the whole, the calculated moments suggest that the distribution of positive and negative charges on the surface of the molecule is a fairly even one.

Dielectric Dispersion and Relaxation Times. In an alternating field of low frequency, the dielectric constant of a liquid is the same as in a static field, provided the rate of alternation is so slow that the molecules have time to orient themselves so as to follow the changing field. If the rate of alternation becomes very high, however, this is no longer possible because of the inertia of the molecules. Hence, if the frequency of the applied field is gradually increased, a region will be found over which the dielectric constant declines from its static value ε_0 to a lower value ε_∞. The latter value represents the dielectric

constant measured at a frequency so high that the permanent dipoles of the solute cannot follow the field at all[1] (Fig. 7). If the solute molecule can be described as if it were an ellipsoid of revolution, then the dielectric constant ε, as a function of the frequency ν, can be described by the equation

$$\varepsilon = \varepsilon_0 - \frac{\Delta\varepsilon_1 \nu^2}{\nu^2 + \nu_1^2} - \frac{\Delta\varepsilon_2 \nu^2}{\nu^2 + \nu_2^2}. \tag{50}$$

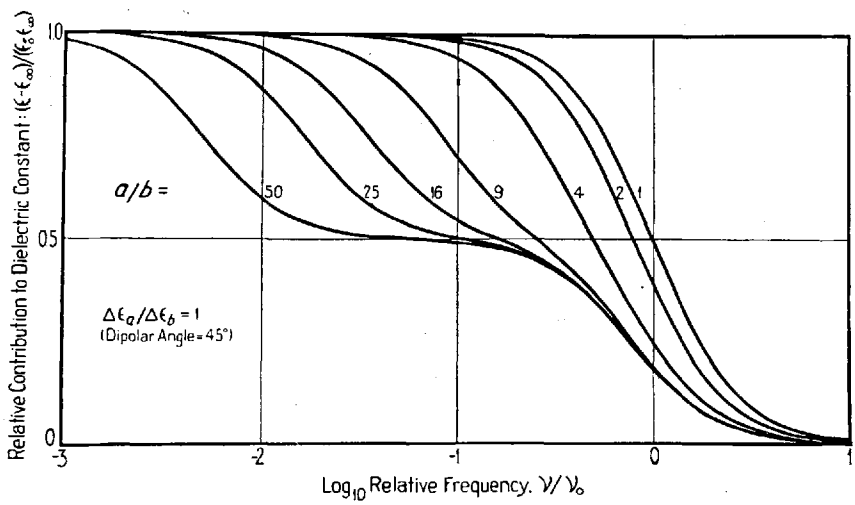


Fig. 8. Dielectric dispersion curves for elongated ellipsoids of revolution (according to PERRIN). Constant dipole angle ($\vartheta = 45°$) and varying axial ratio (a/b from 1 to 50). [From ONCLEY (81).] See also ONCLEY (83), page 441.

The two characteristic frequencies, ν_1 and ν_2 are the critical frequencies of the ellipsoidal molecule and they are related to the corresponding relaxation times τ_1 and τ_2 by the equations

$$\nu_1 = (2\pi\tau_1)^{-1} \quad \text{and} \quad \nu_2 = (2\pi\tau_2)^{-1}. \tag{51}$$

The total increase in dielectric constant produced by the solute is given by

$$\Delta\varepsilon_t = \varepsilon_0 - \varepsilon_\infty = \Delta\varepsilon_1 + \Delta\varepsilon_2. \tag{52}$$

The form of these dielectric dispersion curves is shown in Fig. 8 for a series of elongated ellipsoids of revolution of varying axial ratios. The magnitude of the contribution to the dielectric constant made by the two different portions of the curve, corresponding to the two different relaxation times, depends upon the components of the total

[1] Is is assumed, however, that ε_∞ is measured at a frequency which is sufficiently low that the solvent has the same dielectric constant as in a static field. ε_∞ is, in general, lower than the dielectric constant of the pure solvent, because some of the space in the liquid is occupied by the solute molecules which do not orient in the field.

dipole moment which are parallel to the *a* and *b* axis respectively. It has been assumed in drawing Fig. 8 that the components along both axes are equal; that is, that the dipole moment is at 45° to the axes. In Fig. 9 a series of dielectric dispersion curves are given, for molecules of constant size and shape, but with varying angle between the axes and the total moment. It is apparent from Figs. 8 and 9, that a spherical molecule, or a molecule in which the dipole moment is parallel to either

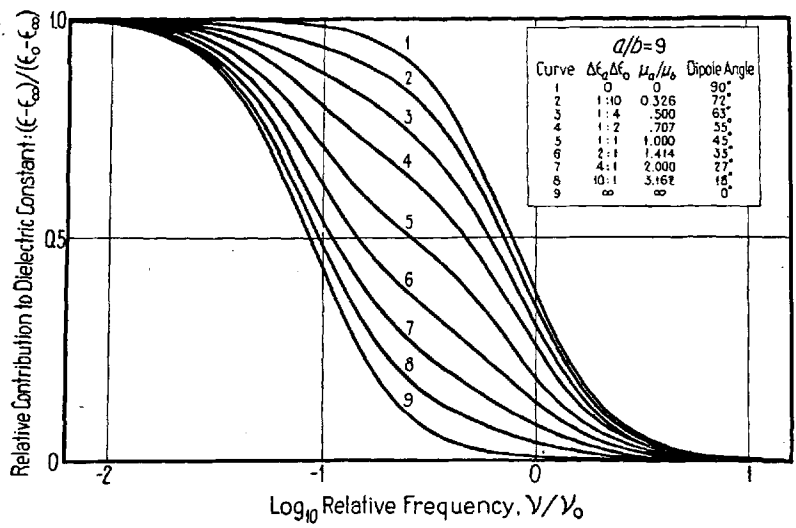


Fig. 9. Dielectric dispersion curves for elongated ellipsoids of revolution (according to PERRIN). Constant axial ratio ($a/b = 9$) and varying dipole angle (ϑ from 0° to 90°). From ONCLEY (81). See also ONCLEY (83), page 442.

the major or the minor axis, shows only a single relaxation time by dielectric dispersion measurements. For practical purposes the same is true for an oblate ellipsoid of virtually any axial ratio (see the discussion on page 140). Thus, it should be possible to distinguish two relaxation times, if the molecule is for a prolate ellipsoid of considerable asymmetry, provided the dipole angle is sufficiently far from either 0° or 90°.

In Fig. 10 is shown a series of dielectric dispersion curves for various proteins. It is to be noted in this figure, that the values of $\varepsilon_0 - \varepsilon_\infty$ for all the proteins are reduced to the same scale, although the actual dielectric increments for these proteins may differ quite widely among themselves, as may be seen from Table 4. It is apparent that the curves for edestin and horse γ-pseudoglobulin cannot be fitted by a single relaxation time; and these molecules must therefore be represented as moderately elongated prolate ellipsoids. Horse carboxyhemoglobin, on the other hand, is well described by a single relaxation time. This is to be expected, since according to the X-ray studies of PERUTZ (*6*) already

discussed, the best available approximation to the shape of this molecule somewhat resembles an oblate ellipsoid of a relatively low degree of asymmetry. Dielectric dispersion data on myoglobin which were obtained by MARCY and WYMAN (*69*) have been critically discussed in relation to other physical measurements on this protein by WYMAN and INGALLS (*134*), and by WYMAN (*133*). WYMAN's final conclusion is that all the data for myoglobin are best fitted by an oblate ellipsoidal molecule with an axial ratio of approximately one to 3.6. A prolate ellipsoidal model of axial

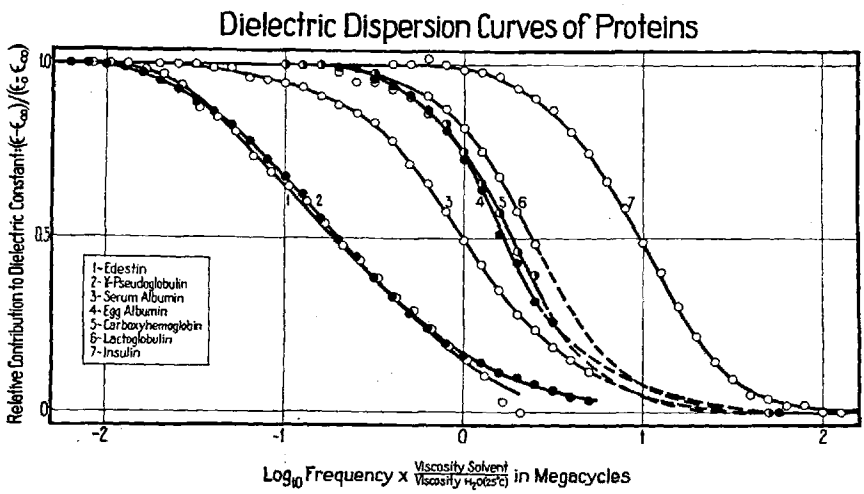


Fig. 10. From ONCLEY (83), page 447.

ratio 2.5 to 1 also fitted the data fairly well, but the oblate model seems inherently more probable, particularly in the light of unpublished X-ray diffraction studies on this protein by KENDREW and PERUTZ[1].

The curve for insulin is unusual in that the observed relaxation time is shorter than would be calculated for an anhydrous sphere of molecular weight 36.000. At the time when these observations were made in 1939, no explanation of this phenomenon was available. However, it is now known — see the discussion on page 134 — that insulin under certain conditions dissociates into smaller units of molecular weight 12.000; and there is evidence[2] that in the solution of 80% propylene glycol in which the dielectric measurements were made, the insulin molecule actually dissociates into units of the smaller size.

The dielectric properties of proteins reveal again a striking difference between their behavior and that of synthetic long-chain polymers. Polar molecules of the latter type, according to the calculations

[1] PERUTZ M. F.: Personal communication.

[2] Unpublished measurements of J. L. ONCLEY and E. ELLENBOGEN.

of FUOSS and KIRKWOOD (*44*), (*58*), should show a broad statistical distribution of relaxation times, even for a monodisperse system, because the different polar groups in the polymer molecule are distributed in a nearly random fashion relative to one another, owing to rotation around valence bonds. Orientation in an electric field is primarily the orientation of molecular segments. According to the statistical distribution of polar groups, the oriented segment may be of any size, from a single polar group to the whole molecule, the most probable size being, of course, somewhere between these two extremes. Experimental measurements of FUOSS (*43*) on concentrated solutions of polyvinyl chloride and other polymers reveal just such a broad distribution of relaxation times. The measurements of BRIDGMAN and WILLIAMS (*8*) and of WYMAN (*132*), on poly-ω-hydroxydecanoic acids in dilute solution, are in harmony with this statistical picture, at least so far as the electric moments are concerned. The polarization per gram of solute in unit volume was found to be independent of polymer size, from the monomer unit up to molecules composed of more than 150 such units. The dielectric constants of these solutions are independent of frequency up to frequencies of $5 \cdot 10^7$ cycles per second, or greater. Hence the relaxation times must be less than 10^{-8} second, perhaps much less.

Proteins, on the other hand, are characterized by one or two well-defined relaxation times, which are of the magnitude to be expected if the protein molecule rotates as a fairly compact and rigid unit in the electric field. If the protein molecule is denatured and caused to unfold in a solvent such as concentrated aqueous urea, it is possible that it would behave more like the synthetic polymers in an electric field; but such studies still remain to be carried out.

Methods of Dielectric Constant Measurement. No attempt at detailed descriptions of the methods used will be given here.

(1) The most generally satisfactory method for the study of protein solutions over a wide range of frequencies is the bridge method, involving the comparison of the resistance and capacitance of a cell containing the solution under investigation with some arrangement of standard resistances and capacitances. The most highly developed apparatus of this type is that of ONCLEY (*80*), (*81*) [see also FERRY and ONCLEY (*39*)]; further developments in Dr. ONCLEY's laboratory are now proceeding.

(2) For a higher range of frequencies the resonance method has been widely used, especially for measurements on amino acids and peptides. Discussion and references are given in the review by WYMAN (*131*).

(3) The force method, which involves the measurement of the deflecting force exerted by an electric field on a conducting ellipsoid

suspended in the solution being studied, was developed by FÜRTH (*45*), (46) and was later used by SHUTT and his co-workers [see for instance DUNNING and SHUTT (*25*) and CARR and SHUTT (*14*)]. It is most satisfactory at low frequencies.

(4) The calorimetric method involves the measurements of the expansion of the solution which results from the heat produced in it by

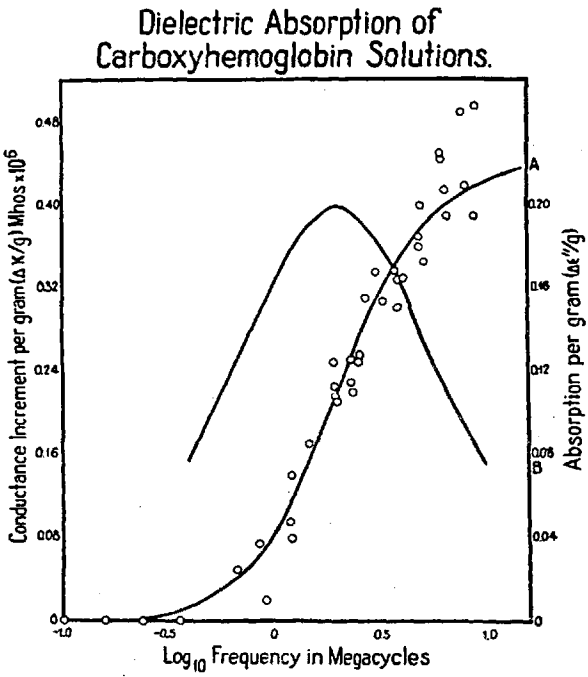


Fig. 11. Dielectric absorption of carboxyhemoglobin solutions: *o*, experimental measurements of $(k - k_0)/g$; curve *A*, $(k - k_0)/g$, and curve *B*, $\Delta\ \epsilon''/g$, calculated from equation 1 of ONCLEY; FERRY and SHACK, using the constants, recorded in Table 1 of their paper, for the calorimetric method. (J. SHACK, Ph. D. dissertation Harvard University 1939.) From ONCLEY, FERRY and SHACK (85). See also ONCLEY (83), page 444.

an applied field of high frequency. The details, as applied to protein solutions, have been described by SHACK (*115*) [see also ONCLEY, FERRY and SHACK (*85*)]. It is particularly suitable for use at high frequencies and, therefore, for relatively small protein molecules. Fig. 11 shows some of SHACK's data for the dielectric absorption of horse carboxyhemoglobin. The relaxation time calculated from these measurements was in good agreement with that obtained by ONCLEY (*80*) for dielectric dispersion measurements by the bridge method.

(5) Certain other special methods have been used by some authors. MARCY and WYMAN (*68*), (*69*) described a method depending on the direct comparison of magnitude and force of the voltage across an unknown and

a standard capacitance, using an oscillograph. They made observations on myoglobin and on certain peptides by this technique. CONNER and SMYTH (*19*) have described apparatus suitable for studying the dielectric dispersion of small dipolar ions (amino acids and peptides) at high frequencies and in a later publication they have extended it to still higher frequencies, permitting measurements on the dispersion of water and organic liquids (*20*).

Some final comments.

The various methods of studying the shape of protein molecules that were discussed here have, on the whole, given reasonably constant and satisfactory results. In the course of the discussion we have compared the data on fibrinogen and myosin obtained by the electron microscope with those inferred for the shape of these proteins by the more indirect methods. The most extensive comparison for any single molecule by a wide variety of different methods is probably that which has been made for tobacco mosaic virus. The unaggregated particles, obtained most readily by sedimentation in the preparative ultracentrifuge, have been found, by electron microscope studies, to be rod-shaped particles of the order of 2700—2800 A long and approximately 152 A in cross-section. They show a marked tendency to aggregation. The most accurate value for the cross-section had been derived by BERNAL and FANKUCHEN (*2*), (*3*) from their X-ray diffraction studies of the virus, which gave a value of 152 A to a high degree of precision[1].

LAUFFER (*66*) estimated the axial ratio of the molecules from viscosity measurements, employing SIMHA's equations (see Table 1) and determined the frictional ratio from sedimentation and diffusion measurements. The axial ratios deduced from viscosity agreed well with direct determinations of size and shape made (by Dr. JAMES HILLIER) with the electron microscope. The length, from the electron microscope studies, was most commonly found to be near 2700 A, though some of the preparations showed considerable amounts of particles as long as 5400 A. OSTER, DOTY and ZIMM (*88*) deduced a length of approximately 2700 A, and a molecular weight near 40.000.000 from measurements of the angular dissymmetry of light scattering, and again found close agreement with electron microscope photographs obtained on the identical preparation. SCHRAMM and BERGOLD (*110*), by sedimentation and diffusion methods, obtained an estimate of axial ratio of 17 to 1 from f/f_0. They cite electron microscope studies of FRIEDRICH-FREKSA, RUSKA and others, giving values of 2200—2500 A, and estimate the molecular weight very

[1] The important findings of BERNAL and FANKUCHEN concerning the liquid crystalline arrangement of the virus particles, and the intermolecular X-ray diffraction patterns, cannot be discussed here.

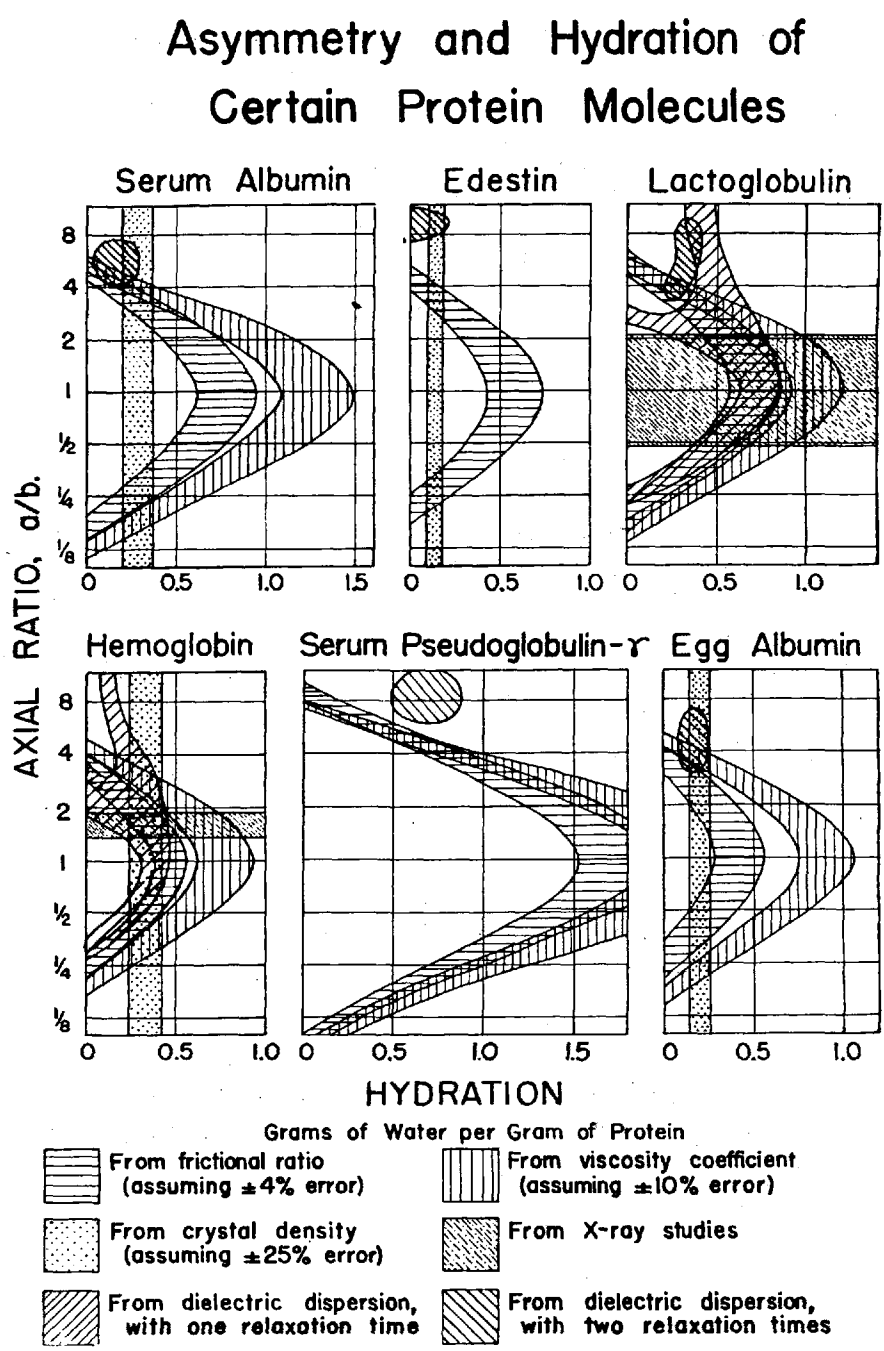


Fig. 12. Possible shapes and degree of hydration of various protein molecules as deduced from various physical measurements. Compare the contour charts, Figures 1 and 2. From ONCLEY, Chapter 22 in reference 16, page 562. The horizontal bar in the figure for hemoglobin [data from *X*-ray studies) should be shifted downwards to lie between $a/b = 1$ and $a/b = \frac{1}{2}$ (see reference (6), and p. 136 of this review].

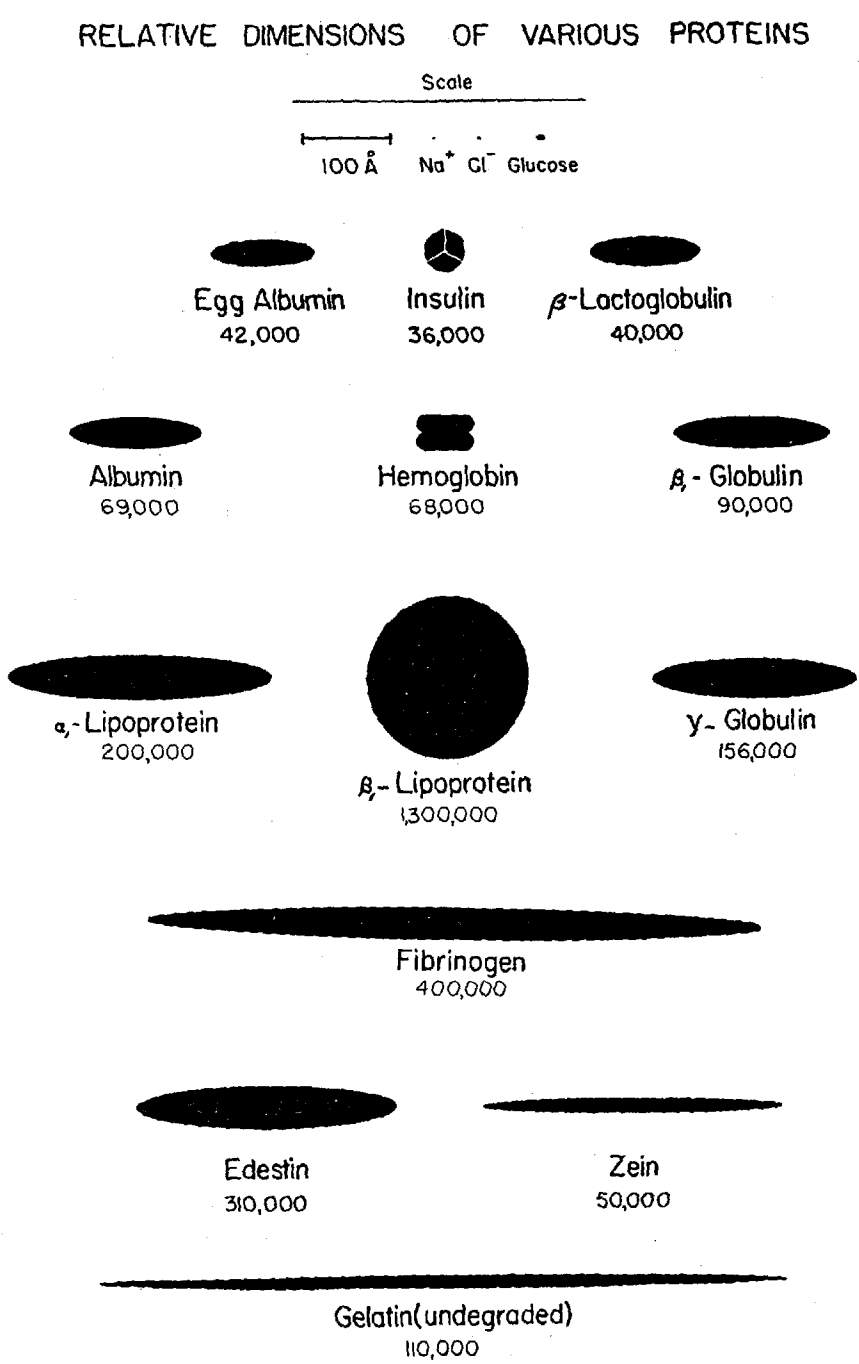


Fig. 13. Estimated dimensions of various protein molecules as seen in projection. Most of the proteins are represented as ellipsoids of revolution. β-lipoprotein is a sphere. Concerning the models for hemoglobin and insulin, see text. This figure was prepared by Dr. J. L. Oncley.

near 40.000.000, in agreement with the American workers. The most recent study, that of SCHACHMAN and LAUFFER (*109*), which has already been discussed in detail, leads to an estimated hydration of 15 % by volume, and an axial ratio of 18.3 from the viscosity measurements. From the various available data they placed the length between 2500 and 2800 A.

As a final summary of some of the inferences reached concerning the size and shape of proteins, the diagrams of Figs. 12 and 13 are presented[1]. The diagrams of Fig. 12 should be compared with the contour charts, Figs. 1 and 2; they represent the application to data for particular proteins of the general principles expressed in the earlier figures. Most of the proteins shown in Fig. 13 have been discussed in the text. The evidence for the model of gelatin shown here has not been discussed in this review; see the paper of SCATCHARD, ONCLEY, WILLIAMS and BROWN (*108*). The α_1-lipoprotein and the β_1-metal binding globulin of human plasma also have not been discussed here. The data concerning their dimensions are given by ONCLEY, SCATCHARD and BROWN (*86*). The model for the hemoglobin molecule is based on PERUTZ's X-ray studies. The cylinder is shown as viewed from the side. Each of the two sections shown in the diagram actually consists itself of two layers, one superimposed on the other. The three-fold nature of the insulin molecule is indicated somewhat schematically. It remains the vast task of future protein chemists to correct and elaborate the very imperfect pictures shown in these models, to fill in the details of structure which will give specific significance and reality to these somewhat abstract geometrical figures.

Bibliography.

1. BATEMAN, J. B., and G. POTAPENKO: Anomalous Dispersion and Absorption of Electric Waves in Solutions of Amino Acids and Dipeptides. Physical Rev. **57**, 1185 (1940).
2. BERNAL, J. D., and I. FANKUCHEN: X-Ray and Crystallographic Studies of Plant Virus Preparations. I. Introduction and Preparation of Specimens. II. Modes of Aggregation of the Virus Particles. J. gen. Physiol. **25**, 111 (1941).
3. — — X-Ray and Crystallographic Studies of Plant Virus Preparations. III. J. gen. Physiol. **25**, 147 (1941).
4. BJÖRNSTÅHL, Y.: Improved Methods of Illumination for the Measurement of Accidental Doble Refraction. J. Optical Soc. Am. **29**, 201 (1939).
5. BOEDER, P.: Über Strömungsdoppelbrechung. Z. Physik **75**, 258 (1932).
6. BOYES-WATSON, J., E. DAVIDSON and M. F. PERUTZ: An X-Ray Study of Horse Methaemoglobin. I. Proceedings of the Roy. Soc. A **191**, 83 (1947).

[1] I am greatly indebted to Dr. J. L. ONCLEY, who designed this figure, for permitting me to use it in this review. My extensive debt to Dr. ONCLEY in the presentation of this subject will be apparent to all my readers.

7. BRAND, E.: Amino Acid Composition of Simple Proteins. Ann. New York Acad. Sci. **47**, 187 (1946).
8. BRIDGMAN, W. B., and J. W. WILLIAMS: Polar Group Orientation in Linear Polymeric Molecules. The ω-Hydroxydecanoic Acids. J. Amer. chem. Soc. **59**, 1579 (1937).
9. BROHULT, S.: Investigations of Helix Pomatia Haemocyanin. Nova Acta Regia Soc. Sci. Upsaliensis **12**, No. 4 (1940).
10. BRUNAUER, S., P. H. EMMET and E. TELLER: Absorption of Gases in Multimolecular Layers. J. Amer. chem. Soc. **60**, 309 (1938).
11. BUCHHEIM, W., H. A. STUART u. H. MENZ: Experimentelle Untersuchungen der Strömungsdoppelbrechung molekularer Flüssigkeiten. Z. Physik **112**, 407 (1939).
12. BULL, H. B.: Adsorption of Water Vapor by Proteins. J. Amer. chem. Soc. **66**, 1499 (1944).
13. BURGERS, J. M.: On the Motion of Small Particles of Elongated Form Suspended in a Viscous Liquid. Second Report on Viscosity and Plasticity. Chapter III. [From Kon. Ned. Akad. Wet. Verhand. (Erste Sectie), D 1, XVI, No. 4, p. 113.]
14. CARR, W., and W. J. SHUTT: Dielectric Properties and Ionisation Constants of Amino-Acids. Trans. Faraday Soc. **35**, 579 (1939).
15. CHIBNALL, A. C.: The Contribution of the Analytical Chemist to the Problem of Protein Structure. J. Intern. Soc. Leather Trades Chem. **30**, 1 (1946).
16. COHN, E. J., and J. T. EDSALL: Proteins, Amino Acids and Peptides. New York: Reinhold Publishing Corporation 1943.
17. — J. L. ONCLEY, L. E. STRONG, W. L. HUGHES jr. and S. H. ARMSTRONG jr.: Chemical, Clinical and Immunological Studies on the Products of Human Plasma Fractionation. I. The Characterization of the Protein Fractions of Human Plasma. J. Clin. Invest. **23**, 417 (1944).
18. CONNER, W. P., R. P. CLARKE and C. P. SMYTH: The Dielectric Investigation of Polypeptides. I. The Dielectric Increments of Amino Acid Polypeptides. J. Amer. chem. Soc. **64**, 1379 (1942).
19. —, and C. P. SMYTH: The Dielectric Investigation of Polypeptides. II. The Dispersion of Simple Amino Acid Polypeptides. J. Amer. chem. Soc. **64**, 1870 (1942).
20. — — The Dielectric Dispersion and Absorption of Water and Some Organic Liquids. J. Amer. chem. Soc. **65**, 382 (1943).
21. CROWFOOT, D.: A Review of Some Recent X-Ray Work on Protein Crystals. Chem. Rev. **28**, 215 (1941).
22. DEBYE, P.: Polar Molecules. New York: McGraw-Hill Book Co. 1929.
23. — Molecular Weight Determination by Light Scattering. J. Phys. and Colloid Chem. **51**, 18 (1947).
24. DE ROSSET, A. J.: Double Refraction of Flow Studies with Methyl Methacrylate Polymers in Solution. J. chem. Physics **9**, 766 (1941).
25. DUNNING, W. J. and W. J. SHUTT: Dielectric Constants of Zwitterions and Polar Molecules as Related to p_H. Trans. Faraday Soc. **34**, 479 (1938).
26. EDSALL, J. T.: Streaming Birefringence and Its Relation to Particle Size and Shape. Advances in Colloid Science **1**, 269 (1942).
27. — The Chemistry of the Proteins and Amino Acids. Annu. Rev. Biochem. **11**, 151 (1942).
28. — Dielectric Constants and Dipole Moments of Dipolar Ions. Chap. 6 in reference 16, p. 140.

29. EDSALL, J. T.: Rotary Brownian Movement. The Shape of Protein Molecules as Determined from Viscosity and Double Refraction of Flow. Chap. 21 in reference 16, p. 506.
30. — Aspects of the Structure and Reactions of Proteins. Frontiers in Chemistry VI, 145 (1949). (Interscience Publishens, New York.)
31. —, and J. F. FOSTER: Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. XVII. Double Refraction of Flow of Human Serum γ-Globulin and Crystallized Bovine Serum Albumin. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1860 (1948).
32. — — and H. SCHEINBERG: Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. XVI. Double Refraction of Flow of Fibrinogen. J. Amer. chem. Soc. **69**, 2731 (1947).
33. — C. G. GORDON, J. W. MEHL, H. SCHEINBERG and D. W. MANN: Studies on Double Refraction of Flow. I. An Apparatus for the Study of Double Refraction of Flow at High Velocity Gradients. Rev. Sci. Insts. **15**, 243 (1944).
34. —, and J. W. MEHL: The Effect of Denaturing Agents on Myosin. II. Viscosity and Double Refraction of Flow. J. Biol. Chem. **133**, 409 (1940).
35. EDWARDES, D.: Steady Motion of a Viscous Liquid in Which an Ellipsoid is Constrained to Rotate About a Principal Axis. Quart. J. Pure and Applied Math. **26**, 70 (1893).
36. EINSTEIN, A.: Eine neue Bestimmung der Molekulardimensionen. Ann. d. Physik **19**, 289 (1906).
37. — Berichtigung zu meiner Arbeit: Eine neue Bestimmung der Moleküldimensionen. Ann. d. Physik **34**, 591 (1911).
38. FANKUCHEN, I.: X-Ray Diffraction and Protein Structure. Advances in Protein Chemistry **2**, 387 (1945).
39. FERRY, J. D., and J. L. ONCLEY: Studies of the Dielectric Properties of Protein Solutions. III. Lactoglobulin. J. Amer. chem. Soc. **63**, 272 (1941).
40. FLORY, P. J.: Thermodynamics of Dilute Solutions of High Polymers. J. chem. Physics **13**, 453 (1945).
41. FOSTER, J. F., and J. T. EDSALL: Studies on Double Refraction of Flow. II. The Molecular Dimensions of Zein. J. Amer. chem. Soc. **67**, 617 (1945).
42. FREY, H. J., and W. J. MOORE: Adsorption of Vapors on Organic Crystals. I. Adsorption of Water Vapor on Glycine, Leucine, Diketopiperazine and Diglycylglycine. J. Amer. chem. Soc. **70**, 3644 (1948).
43. FUOSS, R. M.: The Electrical Properties of High Polymers. The Chemistry of Large Molecules (Frontiers in Chemistry, Vol. I). Interscience, New York, 1943, p. 191.
44. FUOSS, R. M., and J. G. KIRKWOOD: Electrical Properties of Solids. VIII. Dipole Moments in Polyvinyl Chloride-Diphenyl Systems. J. Amer. chem. Soc. **63**, 385 (1941).
45. FÜRTH, R.: Eine neue Methode zur Bestimmung der Dielektrizitätskonstanten guter Leiter. Z. Physik **22**, 98 (1924).
46. — Methoden zur Bestimmung der elektrischen Struktur kolloider Stoffe, insbesondere der Biokolloide. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. III B, S. 835. 1929.
47. GANS, R.: The Theory of Brownian Molecular Motion. Ann. Physik **86**, 628 (1928).
48. GREENSTEIN, J. P. and J. T. EDSALL: The Effect of Denaturing Agents on Myosin. I. Sulfhydryl Groups as Estimated by Porphyrindin Titration. J. Biol. Chem. **133**, 397 (1940).

49. GUTFREUND, H.: The Molecular Weight of Insulin and Its Dependence Upon p_H. Concentration and Temperatures. Biochem. J. **42**, 544 (1948).
50. HALL, C. E.: Electron Microscopy of Fibrinogen and Fibrin. J. Biol. Chem. **179**, 857 (1949).
51. — M. A. JAKUS and F. O. SCHMITT: An Investigation of Cross Striation and Myosin Filaments in Muscle. Biological Bulletin **90**, 32 (1946).
52. HATSCHEK, E.: The Viscosity of Liquids. New York: Van Nostrand Co. 1928.
53. HERZOG, R. O., R. ILLIG u. H. KUDAR: Über die Diffusion in Molekulardispersen Lösungen. Z. physik. Chem. A **167**, 329 (1933).
54. HUGGINS, M. L.: The Effect of Size, Shape and Flexibility of the Solute Molecules on the Properties of Colloidal Solutions. J. Phys. and Colloid Chem. **52**, 248 (1948).
55. JEFFERY, G. B.: The Motion of Ellipsoidal Particles Immersed in a Viscous Fluid. Proc. Roy. Soc. London A **102**, 161 (1922—23).
56. KABAT, E. A.: Molecular Weight of Antibodies. J. exper. Medicine **69**, 103 (1939).
57. KIRKWOOD, J. G.: The Dielectric Polarization of Polar Liquids. J. chem. Physics **7**, 911 (1939).
58. —, and R. M. FUOSS: Anomalous Dispersion and Dielectric Loss in Polar Polymers. J. chem. Physics **9**, 329 (1941).
59. KUHN, W.: Über die Gestalt fadenförmiger Moleküle in Lösungen. Kolloid-Z. **68**, 2 (1934).
60. — Beziehungen zwischen Molekülgröße, statistischer Molekülgestalt und elastischen Eigenschaften hochpolymerer Stoffe. Kolloid-Z. **76**, 258 (1936).
61. —, u. H. KUHN: Die Frage nach der Aufrollung von Fadenmolekeln in strömenden Lösungen. Helv. chim. Acta **26**, 1394 (1943).
62. — — Modellmäßige Deutung der inneren Viskosität (der Formzähigkeitskonstante) von Fadenmolekeln. I. Helv. chim. Acta **29**, 609 (1946).
63. — — Modellmäßige Deutung der inneren Viskosität (der Formzähigkeit) von Fadenmolekeln. II. Helv. chim. Acta **29**, 830 (1946).
64. LANGMUIR, I.: The Role of Attractive and Repulsive Forces in the Formation of Tactoids, Thixotropic Gels, Protein Crystals and Coacervates. J. chem. Physics **6**, 873 (1938).
65. LAUFFER, M. A.: Experimental Facts Pertaining to the Relationship Between Viscosity, Molecular Size and Molecular Shape. Chem. Rev. **31**, 561 (1942).
66. — The Size and Shape of Tobacco Mosaic Virus Particles. J. Amer. chem. Soc. **66**, 1188 (1944).
67. LAWRENCE, A. S. C., J. NEEDHAM and S.-C. SHEN: Studies on the Anomalous Viscosity and Flow-Birefringence of Protein Solutions. J. gen. Physiol. **27**, 201 (1944).
68. MARCY, H. O., and J. WYMAN jr.: Anomalous Dispersion of Dipolar Ions. J. Amer. chem. Soc. **63**, 3388 (1941).
69. — — Dielectric Studies on Muscle Hemoglobin. J. Amer. chem. Soc. **64**, 638 (1942).
70. MARK, H.: Light Scattering in Polymer Solutions. Frontiers in Chemistry. V. Chemical Architecture, p. 121. Interscience Publishers, New York 1948.
71. MCMEEKIN, T. L., and R. C. WARNER: The Hydration of β-Lactoglobulin Crystals. J. Amer. chem. Soc. **64**, 2393 (1942).
72. MEHL, J. W.: Double Refraction of Flow in Protein Solutions. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology **6**, 218 (1938).

73. MEHL, J. W.: Studies on the Proteins of Smooth Muscle. II. The Myosins of the Octopus, Snail, Sea Cucumber and Sea Anemone. Biological Bulletin **79**, 488 (1940).
74. — J. L. ONCLEY and R. SIMHA: Viscosity and the Shape of Protein Molecules. Science **92**, 132 (1940).
75. MELLON, E. F., A. H. KORN and S. R. HOOVER: Water Absorption of Proteins. III. Contribution of the Peptide Group. J. Amer. chem. Soc. **70**, 3040 (1948).
76. MÜNSTER, A.: Zur Theorie der Lösungen hochpolymerer Substanzen. Kolloid-Z. **105**, 1 (1943).
77. — Über einige Eigenschaften gelöster Fadenmoleküle. I. Mitteilung. Z. Naturforsch. **1**, 311 (1946).
78. NITSCHMANN, H., and H. GUGGISBERG: Strömungsoptische und viskosimetrische Untersuchungen über den Lösungszustand von Casein. I. Helv. chim. Acta **24**, 434 (1941).
79. — — Strömungsoptische und viskosimetrische Untersuchungen über den Lösungszustand von Casein. II. Helv. chim. Acta **24**, 574 (1941).
80. ONCLEY, J. L.: Studies of the Dielectric Properties of Protein Solutions. I. Carboxyhemoglobin. J. Amer. chem. Soc. **60**, 1115 (1938).
81. — Electric Moments and Relaxation Times of Protein Molecules. J. physic. Chem. **44**, 1103 (1940).
82. — Evidence from Physical Chemistry Regarding the Size and Shape of Protein Molecules from Ultracentrifugation, Diffusion, Viscosity, Dielectric Dispersion and Double Refraction of Flow. Ann. New York Acad. Sci. **41**, 121 (1941).
83. — The Investigation of Proteins by Dielectric Measurements Chem. Rev. **30**, 433 (1942).
84. — The Electric Moments and the Relaxation Times of Proteins as Measured from their Influence upon the Dielectric Constants of Solutions. Chap. 22 in reference 16, p. 543.
85. — J. D. FERRY and J. SHACK: The Dielectric Properties of Protein Solutions. Ann. New York Acad. Sci. **40**, 371 (1940).
86. — G. SCATCHARD and A. BROWN: Physical-chemical Characteristics of Certain of the Proteins of Normal Human Plasma. J. Phys. and Colloid Chem. **51**, 184 (1947).
87. ONSAGER, L.: Electric Moments of Molecules in Liquids. J. Amer. chem. Soc. **58**, 1486 (1936).
88. OSTER, G., P. M. DOTY and B. H. ZIMM: Light Scattering Studies of Tobacco Mosaic Virus. J. Amer. chem. Soc. **69**, 1193 (1947).
89. PAGE, L.: Introduction to Theoretical Physics. New York: Van Nostrand Co., New York 1928. Chapter VI.
90. PAULING, L.: The Adsorption of Water by Proteins. J. Amer. chem. Soc. **67**, 555 (1945).
91. PEDERSEN, K. O.: Ultracentrifugal Studies on Serum and Serum Fractions. Uppsala: Almqvist and Wiksells Boktryckeri AB 1945.
92. PERRIN, F.: Mouvement brownien d'un ellipsoide. Dispersion diéletrique pour des molécules ellipsoidales. J. Physique Radium (7) **5**, 497 (1934).
93. — Mouvement brownien d'un ellipsoide. II. Rotation libre et dépolarisation des fluorescence. Translation et diffusion de Molécules ellipsoïdales. J. Physique Radium (7) **7**, 1 (1936).
94. — Le mouvement brownien de rotation. C. r. hebd. Séances Acad. Sci. **149**, 549 (1909).

95. PERUTZ, M. F.: The Composition and Swelling Properties of Haemoglobin Crystals. Trans. Faraday Soc. **42** B, 187 (1946).
96. PETERLIN, A.: Über die Viskosität von verdünnten Lösungen und Suspensionen in Abhängigkeit von der Teilchenform. Z. Physik **111**, 232 (1938).
97. —, u. H. A. STUART: Doppelbrechung, insbesondere künstliche Doppelbrechung. Hand- und Jahrbuch der chemischen Physik, Bd. 8, S. 1. 1943.
98. — — Zur Theorie der Strömungsdoppelbrechung von Kolloiden und großen Molekülen in Lösung. Z. Physik **112**, 1 (1939).
99. — — Über die Bestimmung der Größe und Form, sowie der elektrischen, optischen und magnetischen Anisotropie von submikroskopischen Teilchen mit Hilfe der künstlichen Doppelbrechung und der inneren Reibung. Z. Physik **112**, 129 (1939).
100. PUTZEYS, P., and J. BROSTEAUX: The Scattering of Light in Protein Solutions. Trans. Faraday Soc. **31**, 1314 (1935).
101. — — Light Scattering and the Molecular Weight of the Proteins. Med. Kon. VI. Acad. Belgie Wetensch. **3**, No. 1 (1941).
102. SADRON, C.: Sur la Biréfringence Dynamique des Liquides Purs. J. Physique Radium (7) **7**, 263 (1936).
103. — Sur les propriétés dynamo-optiques des liquides purs et des solutions colloidales. Schweizer Arch. Angew. Wiss. Tech. **3**, 8 (1937).
104. — Biréfringence dynamique des colloides (effet MAXWELL). Influence de la dispersité. J. Physique Radium (7) **9**, 381 (1938).
105. —, and H. MOSIMANN: Biréfringence dynamique des colloides. Étude expérimentale de quelques systèmes polydisperses. J. Physique Radium (7) **9**, 384 (1938).
106. SCATCHARD, G.: Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. V. Derivation of the Equations for the Osmotic Pressure. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2315 (1946).
107. — A. C. BATCHELDER and A. BROWN: Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. VI. Osmotic Equilibria in Solutions of Serum Albumin and Sodium Chloride. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2320 (1946).
108. — J. L. ONCLEY, J. W. WILLIAMS and A. BROWN: Size Distribution in Gelatin Solutions. J. Amer. chem. Soc. **66**, 1980 (1944).
109. SCHACHMAN, H. K., and M. A. LAUFFER: The Hydration, Size and Shape of Tobacco Mosaic Virus. J. Amer. chem. Soc. **71**, 536 (1949).
110. SCHRAMM, G., u. G. BERGOLD: Über das Molekulargewicht des Tabakmosaikvirus. Z. Naturforsch. **2** b, 108 (1947).
111. SCHULZ, G. V.: Statistische Ableitung der Grenzgesetze für verdünnte Lösungen bei Verschiedenheit der Molvolumina. Z. Naturforsch. **2** a, 27 (1947).
112. — Mischungsentropie und osmotischer Druck von Lösungen langgestreckter, starrer Teilchen. Z. Naturforsch. **2** a, 348 (1947).
113. — Mischungsentropie und osmotischer Druck von Lösungen langgestreckter Teilchen mit innerer Beweglichkeit. Z. Naturforsch. **2** a, 411 (1947).
114. SENTI, F. R., and R. C. WARNER: X-Ray Molecular Weight of β-Lactoglobulin. J. Amer. chem. Soc. **70**, 3318 (1948).
115. SHACK, J.: Dielectric Absorption of Protein Solutions. Ph. D. Dissertation, Harvard University 1939.
116. SHARP, D. G., A. R. TAYLOR and J. W. BEARD: The Density and Size of the Rabbit Papilloma Virus. J. Biol. Chem. **163**, 289 (1946).
117. — A. G., A. R. TAYLOR, I. W. MCLEAN jr., D. BEARD and J. W. BEARD: Densities and Sizes of the Influenza Viruses A (PR 8 Strain) and B (Lee Strain) and the Swine Influenza Virus. J. Biol. Chem. **159**, 29 (1945).

118. SIGNER, R., u. H. GROSS: Über die Strömungsdoppelbrechung verdünnter Lösungen der Molekülkolloide. Mitteilung über hochpolymere Verbindungen. Z. physik. Chem. A **165**, 161 (1933).
119. SIMHA, R.: The Influence of Brownian Movement on the Viscosity of Solutions. J. physic. Chem. **44**, 25 (1940).
120. SMADEL, J. E., E. G. PICKELS and T. SHEDLOVSKY: Ultracentrifugal Studies on the Elementary Bodies of Vaccine Virus. II. The Influence of Sucrose, Glycerol and Urea Solutions on the Physical Nature of Vaccine Virus. J. exp. Medicine **68**, 607 (1938).
121. SNELLMAN, O., u. Y. BJÖRNSTÅHL: Einige Untersuchungen über Strömungsdoppelbrechung. Kolloidbeihefte **52**, 403 (1941).
122. SVEDBERG, T., and K. O. PEDERSEN: The Ultracentrifuge. Oxford: Clarendon Press 1940.
123. SZENT-GYÖRGYI, A.: Chemistry of Muscular Contraction. New York: Academic Press, Inc. 1947.
124. — Nature of Life. A Study on Muscle. New York: Academic Press, Inc. 1948.
125. TAYLOR, G. I.: Stability of a Viscous Liquid Contained Between Two Rotating Cylinders. Philos. Trans. Roy. Soc. London A **223**, 289 (1923).
126. — Fluid Friction Between Rotating Cylinders. I. Torque Measurements. Proc. Roy. Soc. London (A) **157**, 546 (1936).
127. — Fluid Friction Between Rotating Cylinders. II. Distribution of Velocity Between Concentric Cylinders when Outer One is Rotating and Inner one is at Rest. Proc. Roy. Soc. London (A) **157**, 565 (1936).
128. VON MURALT, A., and J. T. EDSALL: Studies in the Physical Chemistry of Muscle Globulin. III. The Anisotropy of Myosin and the Angle of Isocline. J. Biol. Chem. **89**, 315 (1930).
129. — — Studies in the Physical Chemistry of Muscle Globulin. IV. The Anisotropy of Myosin and Double Refraction of Flow. J. Biol. Chem. **89**, 351 (1930).
130. WILLIAMS, J. W., and L. C. CADY: Molecular Diffusion in Solution. Chem. Rev. **14**, 171 (1934).
131. WYMAN, J. jr.: The Dielectric Constant of Solutions of Dipolar Ions. Chem. Rev. **19**, 213 (1936).
132. — The Dielectric Constant of ω-Hydroxydecanoic Acid Polymers. J. Amer. chem. Soc. **60**, 328 (1938).
133. — Heme Proteins. Advances in Protein Chemistry **4**, 407 (1948).
134. —, and E. N. INGALLS: A Nomographic Representation of Certain Properties of the Proteins. J. Biol. Chem. **147**, 297 (1943).
135. ZIMM, B. H.: Application of the Methods of Molecular Distribution to Solutions of Large Molecules. J. chem. Physics **14**, 164 (1946).

(Completed March, 1949.)

Prof. Dr. JOHN T. EDSALL, Department of Physical Chemistry, Harvard Medical School, Boston 15, Massachusetts.

Fortschr. chem. Forschg., Bd. 1, S. 175—210 (1949).

Synthesen in der Carotinoid-Chemie seit 1939.

Von

H. H. INHOFFEN und F. BOHLMANN.

Mit 1 Textabbildung.

Inhaltsübersicht.

Seite

1. Einleitung und erweiterter Nomenklaturvorschlag 175
2. C_{10}: Desmethyl-ionon 177
3. C_{13}: Dehydro-ionon 178
4. C_{14}: Iron und Iso-iron 178
5. C_{14}: C_{14}-Aldehyd und C_{14}-Epoxyd 180
6. C_{15}: Ionyliden-äthan und Ionyliden-acetaldehyd 182
7. C_{16}: C_{16}-Keton, Ionyliden-aceton 184
8. C_{16}: C_{16}-Äthinylverbindungen und einige andere Kondensationsprodukte des C_{14}-Aldehyds 185
9. C_{17}: C_{17}-Säure, Ionyliden-crotonsäure 187
10. C_{18}: C_{18}-Keton 188
11. C_{19} und C_{20}: Kohlenwasserstoffe C_{19} und C_{20} 190
12. C_{20}: Vitamin A-Säure 193
13. C_{20}: Vitamin A-Äther 195
14. C_{20}: Vitamin A-Alkohol 198
15. C_{15} bis C_{38}: Carotinoid-keton-oxalesterverbindungen 202
16. C_{30}: C_{30}-Kohlenwasserstoff 204
17. C_{40}: Dehydro-lycopin 205
18. C_{40}: Carotinoid-epoxyde 205
19. C_{40}: Lycopersen 206

Literatur 207

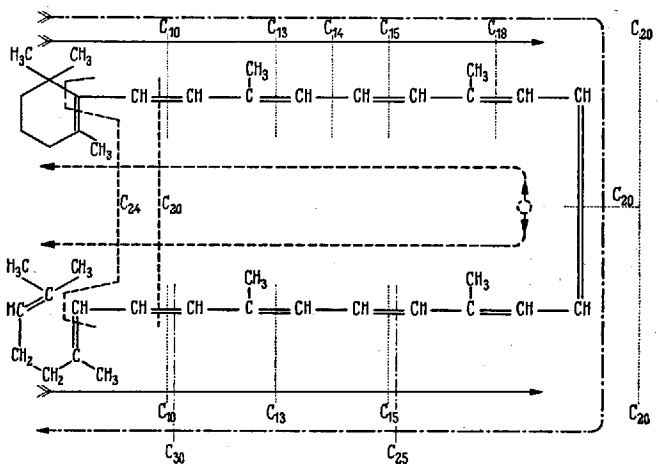
1. Einleitung und erweiterter Nomenklatur-Vorschlag.

Die große Verbindungsklasse der Isopren-Abkömmlinge läßt sich in drei Untergruppen einteilen: die Terpene, die Carotinoide und der Kautschuk. Die Carotinoide sind Naturstoffe, die sowohl im Pflanzenreich als auch im Tierreich außerordentlich weit verbreitet sind. Sie stellen fettlösliche Pigmente dar — Lipochrome —, die sich in ihrem Aufbau sämtlich sehr ähnlich sind. Das Kohlenstoffgerüst besteht aus Isoprenresten, meistens 8, die dann so angeordnet sind, daß die seitenständigen Methylgruppen in der Mitte in 1,6-Stellung stehen, während alle übrigen die bekannte 1,5-Stellung aufweisen. Weiterhin charakteristisch für diese Stoffklasse ist die große Zahl von konjugierten Doppelbindungen, wodurch ihre langwellige Lichtabsorption und somit ihre Farbigkeit zustande kommt.

Der Hauptvertreter der Carotinoide ist das β-Carotin; bisher zählt man zu dieser Stoffklasse nur die dem β-Carotin isomeren Verbindungen α- und γ-Carotin, Lycopin und sauerstoffhaltige Substitutionsprodukte. Außerdem rechnet man noch einige Abbauprodukte hinzu, z. B. Bixin

u. a. Insgesamt sind bereits etwa 60—70 Carotinoide in der Natur aufgefunden worden.

Es erscheint uns angebracht, den Begriff „Carotinoide" zu erweitern [1]. Wir möchten vorschlagen, daß alle die Verbindungen, die *einen Teil* des typischen Kohlenstoffgerüstes vom *γ-Carotin* bis hinunter zu Isopren-Abkömmlingen mit *10 C-Atomen* enthalten, zu den Carotinoiden gezählt werden, gleichgültig, ob sie partiell hydriert oder dehydriert sind. So z. B. das Vitamin A, die Ionone (α-, β-, Pseudo-), Cyclocitral und Citral. In der nachstehenden Formel des γ-Carotins sind durch Striche einige typische Vertreter gekennzeichnet:



γ-Carotin

Abb. 1

(obere) cyclische Hälfte:

C_{10}: Cyclocitral (α-, β-)
C_{13}: Ionon (α-, β-)
C_{14}: C_{14}-Aldehyd
C_{15}: Ionyliden-acetaldehyd
C_{18}: C_{18}-Keton
C_{20}: Vitamin A_1

(untere) nichtcyclische Hälfte:

C_{10}: Citral
C_{10}: Dehydro-citral
C_{13}: Pseudo-ionon
C_{15}: Farnesinal
C_{20}: Vitamin A_2?

Mittelteil (gestrichelt — — — —):

C_{20}: Crocetin
C_{24}: nor-Bixin

„Unsymmetrische Carotinoide" mit mehr als 20 C-Atomen (punkt-gestrichelt —·—·—):

C_{25}: β-Apo-4-carotinal
C_{30}: β-Apo-2-carotinal.

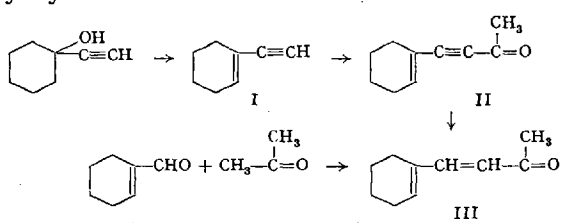
[1] Eine im Jahre 1946 veröffentlichte Nomenklatur für Carotinoide [B. L. WEHMHOFF: „Nomenclature of Carotenoid Pigments", Chem. and Engin. News **24**, 1235 (1946)] bezieht sich nur auf die natürlichen Pigmente; der Begriff „Carotinoide" wurde nicht klar umgrenzt.

Man sieht sofort, daß sich jetzt zwanglos die große Zahl von synthetischen Stoffen, die für den Aufbau der „klassischen Carotinoide" wichtig sind, in diese erweiterte Verbindungsklasse einordnen lassen. Aber auch Verbindungen mit einem Mehr- oder Mindergehalt an Methylgruppen, wie z. B. das Iron und Nor-Vitamin A, sowie Verbindungen mit „versetzten" Methylgruppen, wie das C_{16}-Keton, wollen wir mit in den erweiterten Begriff „Carotinoide" hineinnehmen. Naturgemäß läßt sich das Gebiet nicht ganz scharf eingrenzen. Zwischen den beiden Verbindungsklassen, den Terpenen und den Carotinoiden, gibt es gewisse Übergangsglieder, die sich in beide Gruppen einordnen lassen. Hierzu gehören die aliphatischen Terpene, wie z. B. Geraniol, Farnesol und Phytol, zumal hier schon wiederholt genetische Zusammenhänge mit den klassischen Carotinoiden vermutet worden sind.

Da das physiologisch wichtige Vitamin A zu dieser Verbindungsklasse gehört, hat dieses Gebiet neben dem theoretischen auch ein erhebliches praktisches Interesse gefunden. Besonders in den letzten 10 Jahren hat von allen Seiten eine intensive Bearbeitung vor allem im Hinblick auf die Synthese des Vitamin A eingesetzt. Obwohl bereits in den Jahren 1932/33 die Konstitution des Vitamin A von KARRER (*35*) und HEILBRON (*16*) aufgeklärt werden konnte, hat die Synthese als endgültiger Konstitutionsbeweis erhebliche Schwierigkeiten bereitet. Trotz der zahlreichen Versuche ist es erst im Jahre 1947 gelungen, krystallisiertes Vitamin A synthetisch herzustellen. Die wichtigsten Arbeiten der letzten 10 Jahre, die auf dem Carotinoidgebiet durchgeführt wurden, sind im folgenden zusammengestellt.

2. C_{10}: Desmethyl-ionon.

Zwecks Auffindung von Zusammenhängen zwischen Konstitution und Vitamin A-Wirkung hat HEILBRON (*15*) ein Keton dargestellt, das im Gegensatz zum β-Ionon keine ringständigen Methylgruppen trägt. Zu diesem Keton gelangte er auf zwei Wegen; der erste geht aus vom Äthinyl-cyclohexanol:

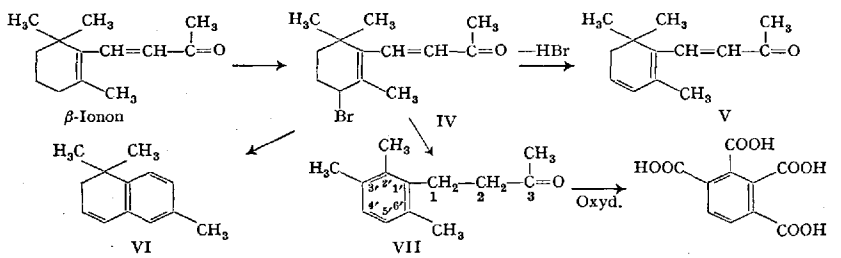


Diese Verbindung wurde durch Wasserabspaltung in den Kohlenwasserstoff I, das Äthinyl-cyclohexen, umgewandelt. Die Wasserabspaltung bereitete einige Schwierigkeiten. Am besten läßt sie sich

in der Gasphase mit Aluminiumphosphat bewerkstelligen. Der Kohlenwasserstoff I wurde dann in die GRIGNARD-Verbindung übergeführt und diese mit Essigsäureanhydrid zum Keton II umgesetzt. Partielle Hydrierung ergab schließlich Desmethyl-ionon (III). Der zweite Weg zum Desmethyl-ionon ist die Kondensation von Tetrahydrobenzaldehyd mit Aceton.

3. C_{13}: Dehydro-ionon.

HENBEST (*23*) beschreibt in einer kurzen Mitteilung die Darstellung von Dehydro-ionon (V). β-Ionon wird mit Hilfe von N-Bromsuccinimid in das Bromid IV übergeführt. Mittels Diäthyl-anilin wird HBr abgespalten und man erhält das Keton V, charakterisiert durch ein Semicarbazon vom Fp. 144—146°; das Keton besitzt ein Ultraviolett-Maximum von 337 mμ.



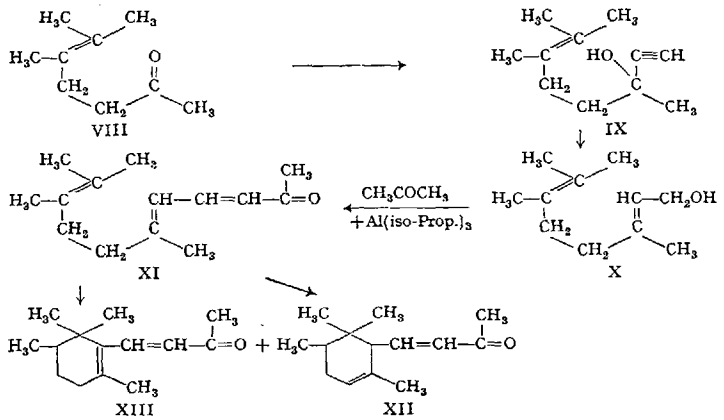
Dieselbe Reaktion haben KARRER und OCHSNER (*36*) durchzuführen versucht. Sie stellten jedoch fest, daß man unter den von ihnen angewandten Reaktionsbedingungen nicht zu dem gesuchten Dehydro-ionon kommt. Es wurde ein nichtketonischer Anteil erhalten, der sich durch oxydativen Abbau als Δ-3-Dehydro-ionen (VI) identifizieren ließ. Der Ketonanteil stellt ein (2′-,3′-,6′-Trimethylphenyl)-butanon-3 (VII) dar. Beim oxydativen Abbau von VII haben die Autoren Mellophansäure erhalten, wodurch die Konstitution des Ketons als gesichert anzusehen ist. Leider ist es bisher noch nicht bekannt, welche Reaktionsbedingungen HENBEST angewandt hat, da diese in seiner Mitteilung nicht angegeben worden sind.

Inzwischen ist eine Arbeit von G. BÜCHI, K. SEITZ und O. JEGER (*5a*) erschienen, die sowohl die Angaben von HENBEST als auch die von KARRER bestätigt. Bei der Behandlung mit Dimethylanilin entsteht bei 80° β-Dehydro-ionon und in der Siedehitze Trimethylphenylbutanon.

4. C_{14}: Iron und Iso-iron.

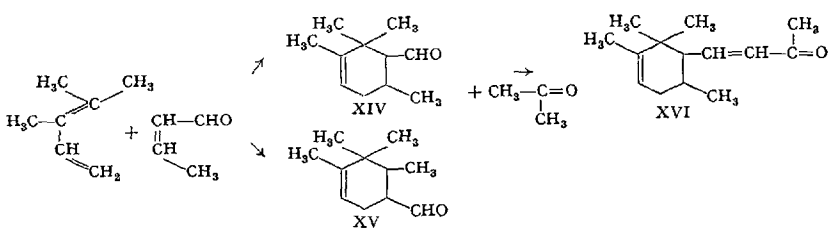
Die Konstitution des Irons — des Geruchsträgers der Veilchen — konnte erst im Jahre 1947 von RUZICKA, SCHINZ und Mitarbeitern (*59*), (*60*) sowie von NAVES und ARDIZIO (*53*), (*54*) endgültig aufgeklärt

werden. Die bisher angenommene 7-Ring-Formel ließ sich nicht länger aufrechterhalten und wurde durch die Formel XIII ersetzt. Das Iron stellt somit ein Methyl-ionon dar. Die Autoren haben auch eine Synthese des Irons beschrieben.



Man geht hierzu vom 2,3-Dimethyl-hepten-2-on-6 (VIII) aus: Umsetzung mit Acetylen-natrium führt zum Carbinol IX, partielle Hydrierung und Allyl-Umlagerung zum Alkohol X. Dieser Alkohol wird nach OPPENAUER mit Aluminium-isopropylat in Gegenwart von Aceton oxydiert, wobei unter gleichzeitiger Kondensation des entstehenden Aldehyds mit Aceton das Pseudo-iron (XI) entsteht. Ringschluß mit Phosphorsäure führt zu einem Gemisch von α-Iron (XII) und β-Iron (XIII), die als Phenyl-semicarbazone identifiziert werden konnten. Die bekannten Abbaureaktionen des Irons lassen sich mit der jetzt angegebenen Konstitution in Einklang bringen. Das UV-Absorptionsspektrum des β-Irons ist dem des β-Ionons sehr ähnlich (Maximum 295 mμ).

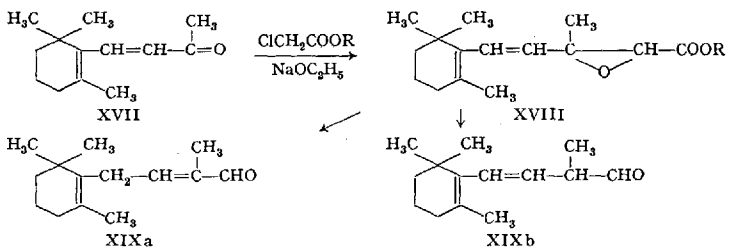
Eine interessante Synthese des Iso-irons (XVI) beschreiben NAVES und ARDIZIO (*55*). Durch Anwendung der DIELS-ALDERschen Diensynthese konnte aus Trimethyl-butadien und Crotonaldehyd ein Gemisch der Aldehyde XIV und XV dargestellt werden.



Die Trennung dieser Aldehyde gelingt über die Phenylsemicarbazone. Die Kondensation des Aldehyds XIV mit Aceton führt zum Iso-iron XVI.

5. C_{14}: C_{14}-Aldehyd und C_{14}-Epoxyd.

Die Anwendung der DARZENschen Glycidester-Synthese auf β-Ionon ist erstmals von den japanischen Autoren ISHIKAWA und MATSUURA (*26*) durchgeführt worden; sie geben an, den Aldehyd XIX erhalten zu haben. Es ist aber anzunehmen, wie aus späteren Untersuchungen hervorgeht (*7*), (*21*), daß sie noch kein reines Präparat in Händen gehabt hatten.



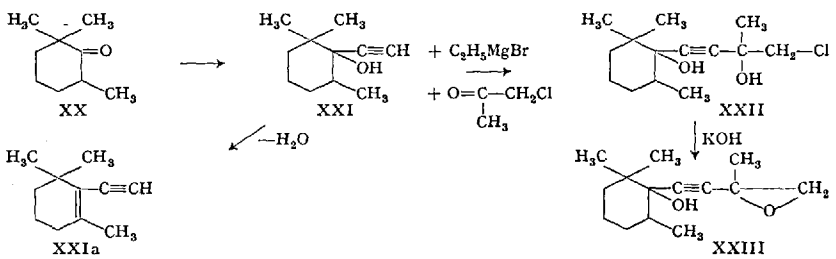
HEILBRON und Mitarbeiter (*7*), (*21*) haben erkannt, daß dieser Aldehyd, der sog. β-C_{14}-Aldehyd, für eine Synthese des Vitamin A von Bedeutung sein würde. Es hatte sich nämlich gezeigt, daß das β-Ionon bei vielen Kondensationen anomal reagierte und nicht die gewünschten Verbindungen lieferte. Daraufhin haben sie die Glycidester-Reaktion mit β-Ionon genauestens studiert. Sie führten die Reaktion unter den üblichen Bedingungen durch, begannen allerdings bei sehr tiefen Temperaturen (−60°). Die Ausbeute an dem Glycidester XVIII ist dabei noch relativ gut, während die durch Verseifung erhaltene Glycidsäure nur in schlechter Ausbeute, jedoch krystallin erhalten wurde. Die Decarboxylierung konnte im Vakuum mit Kupferpulver durchgeführt und der entstandene Aldehyd XIX über das Thiosemicarbazon gereinigt werden. Die Gesamtausbeute, bezogen auf Ionon, beträgt hierbei höchstens 20%. Diese Reaktionsfolge wurde auch mit α-Ionon durchgeführt. Beide Substanzen, der α- und der β-Aldehyd, haben praktisch das gleiche UV-Absorptionsspektrum; ebenso ihre Aldehyd-Derivate. Daraus zieht HEILBRON den Schluß, daß dem Aldehyd die Struktur XIXa zuzuordnen ist [vgl. dagegen MILAS (*48*)]. Diese Struktur konnte neuerdings durch Ramanaufnahmen sowie durch die UV-Spektren einiger Umsetzungsprodukte des C_{14}-Aldehyds gefestigt werden (*25*).

Eine ganz wesentliche Verbesserung der Glycidester-Reaktion mit β-Ionon haben dann ISLER, HUBER, RONCO und KOFLER (*28*) erzielen können. Der wesentliche Unterschied zu den bisherigen Reaktionsbedingungen besteht darin, daß sie die Reaktion ohne Lösungsmittel durchführen und den Glycidester sowie die Glycidsäure nicht isolieren, sondern bereits in der Kälte mit 20%iger alkoholischer Natronlauge eine Verseifung *und* Decarboxylierung erreichen. Auf diese Weise

kommen sie in wesentlich kürzeren Operationen zu einer Ausbeute von 80%. Erst hierdurch ist es möglich geworden, daß der β-C_{14}-Aldehyd für die Synthese des Vitamin A eine so große und entscheidende Bedeutung erlangt hat.

Ungefähr zur selben Zeit hatten in Amerika auch MILAS und Mitarbeiter (*48*) die Glycidester-Synthese bearbeitet. Sie beschreiten zunächst denselben Weg, aber die Decarboxylierung der Glycidsäure führten sie über das Pyridinsalz durch. Es wird auf diese Weise als Hauptprodukt ein Aldehyd erhalten, dem die Konstitution XIXb zuzukommen scheint. Die angegebenen experimentellen Daten sprechen in der Tat dafür, daß MILAS einen isomeren Aldehyd erhalten hat. Bei der Ozonisierung erhält man Geronsäure, was mit seiner Formel gut in Einklang zu bringen ist, und bei der Umsetzung mit Äthylmagnesiumbromid wird ein Carbinol gebildet, das bei 226 mμ absorbiert. Bei Formel XIXa wäre dies nicht möglich, da in diesem Fall kein Carbinol mit konjugierten Doppelbindungen entstehen könnte. Auch die Schmelzpunkte der Aldehyd-Derivate unterscheiden sich von denen der übrigen Autoren.

MILAS, MCDONALD und BLACK (*50*) beschreiben die Synthese eines Äthylenoxyds XXIII, das genau so reagiert wie der C_{14}-Aldehyd. Ausgangsprodukt ist das Trimethyl-cyclohexanon XX:

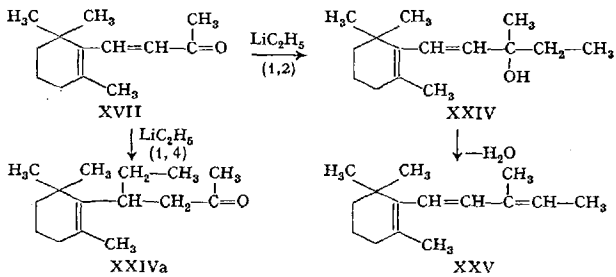


Dieses wird mit Natrium-acetylid zum Carbinol (XXI) umgesetzt und durch Wasserabspaltung über Aluminiumphosphat in den Kohlenwasserstoff XXIa übergeführt. Auch hier hat die Wasserabspaltung erhebliche Schwierigkeiten bereitet; fast alle üblichen Reaktionsbedingungen versagten mehr oder weniger. Das Carbinol XXI wurde nun mit Äthylmagnesiumbromid in die GRIGNARD-Verbindung übergeführt und diese mit Chloraceton umgesetzt. Dabei entsteht die Verbindung XXII. Mit Kalilauge erfolgte schließlich die Abspaltung von HCl unter Bildung des Äthylenoxyds XXIII. Um zu einem dem C_{14}-Aldehyd entsprechenden Stoff zu kommen, müßte man noch eine partielle Hydrierung der Acetylen-Bindung sowie die Wasserabspaltung anschließen. MILAS gibt an, daß die Acetylen-Verbindung wie der C_{14}-Aldehyd reagiert. Die Substanz schmilzt bei 81—82° und gibt mit Dinitrophenyl-hydrazin ein gut krystallisiertes Derivat vom Fp. 185°

bis 187°. Diese Versuche verdienen insofern besonderes Interesse, als das als Ausgangsmaterial benutzte Trimethyl-cyclohexanon (XX) aus dem billigen Steinkohlenprodukt o-Kresol zugänglich ist und somit das relativ kostbare β-Ionon umgangen werden könnte.

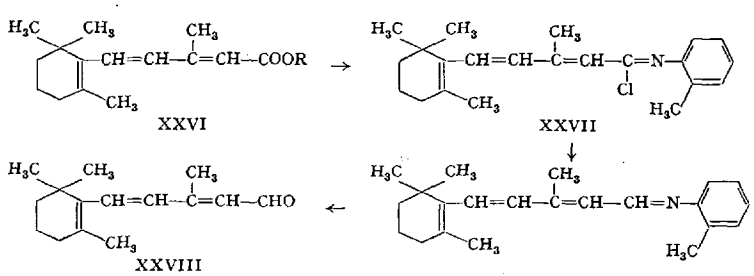
6. C_{15}: Ionyliden-äthan und Ionyliden-acetaldehyd.

KARRER und BENZ (*32*) haben durch Umsetzen von β-Ionon mit Lithiumäthyl das Carbinol XXIV dargestellt. Als Nebenprodukt entsteht ein Keton auf Grund von 1,4-Addition des Lithiumäthyls (XXIVa).



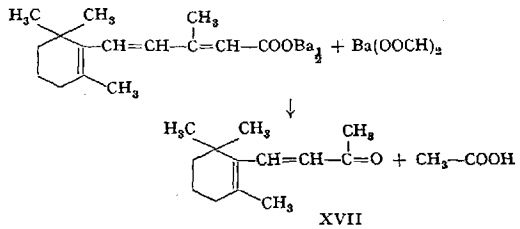
Dieses wurde mit Hilfe von GIRARDs Reagens abgetrennt. Die Wasserabspaltung aus dem Carbinol führte zum Kohlenwasserstoff XXV, dem β-Ionyliden-äthan, mit einem UV-Absorptionsmaximum bei 282 mμ.

Der Ionyliden-acetaldehyd (XXVIII) ist bereits in vielen Arbeiten beschrieben worden. Erstmals benutzten ihn KUHN und MORRIS (*46*) zu ihrer Synthese des Vitamin A. Ausgangsprodukt ist der β-Ionylidenessigester (XXVI), der in das o-Toluidid übergeführt wird. Mit Phosphorpentachlorid entsteht hieraus das Chlorid XXVII, woraus durch anschließende Reduktion mit Chromochlorid und Spaltung der Aldehyd XXVIII erhalten wird, der als Semicarbazon charakterisiert werden konnte.



Andere Autoren haben allerdings auf diesem Wege nur unreine Produkte erhalten [HEILBRON (*21*), KARRER (*37*), KRAUSE und SLOBODIN (*45*)].

Eine andere Art der Darstellung beschreiben HEILBRON und Mitarbeiter (*8*). Die Destillation des Bariumsalzes der Ionyliden-essigsäure mit Bariumformiat sollte den Aldehyd (XXVIII) ergeben. Wie aber später SOBOTKA (*62*) und KARRER (*38*) festgestellt haben, entsteht hierbei unter Abspaltung von Essigsäure Ionon.



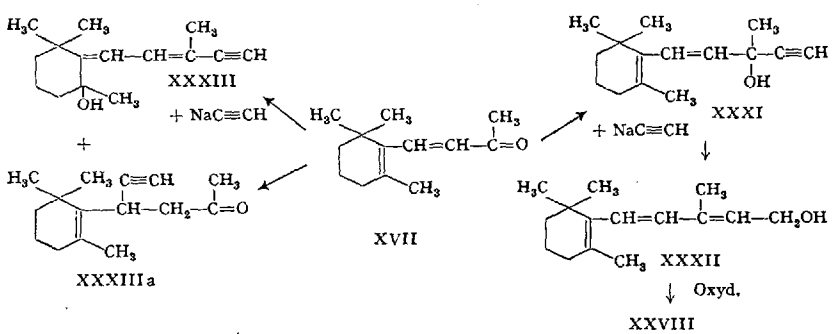
XVII

SOBOTKA gibt an, daß er hierbei α-Ionon erhielt, während KARRER anscheinend nur β-Ionon bekommen hat. SOBOTKA glaubt, daß bereits bei der REFORMATZKI-Reaktion von Ionon mit Bromessigester eine teilweise Umlagerung von der β- in die α-Verbindung stattfindet, da die aus α- und β-Ionon erhaltenen Säuren im Absorptionsspektrum sich nur unwesentlich unterscheiden. Auf Grund der Arbeit von KARRER muß man aber wohl annehmen, daß eine solche Umlagerung bei dieser Reaktion nicht stattfindet; das Zustandekommen der anomalen Spektren muß eine andere Ursache haben.

Daß unter bestimmten Bedingungen eine Umlagerung möglich ist, zeigen Versuche von KÖSTER [B. **77**, 533 (1944)], der mittels Natriumäthylat eine Umwandlung von α- in β-Ionon und umgekehrt bis zu einem Gleichgewicht beobachtet hat.

KRAUSE und SLOBODIN (*45*) behaupten, daß sie durch Umsetzen von β-Ionon mit Magnesium und Bromacetal den C_{15}-Aldehyd dargestellt hätten. Aber auch diese Reaktion konnte nicht reproduziert werden [MILAS (*47*), ARENS und VAN DORP (*3*)].

Einen ganz anderen Weg haben HEILBRON und Mitarbeiter (*17*) eingeschlagen. Sie überführten Ionon mit Natriumamid und Acetylen



XXXIII

XXXIIIa

XVII

XXXI

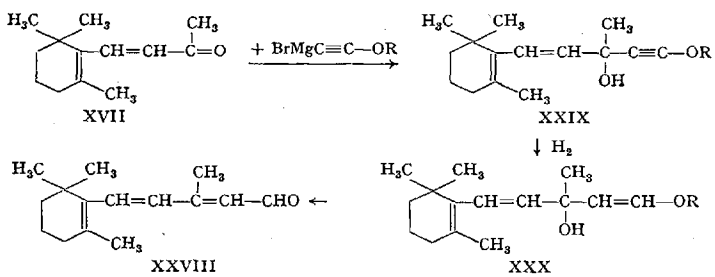
XXXII

XXVIII

in die C_{15}-Äthinyl-Verbindung XXXI. Partielle Reduktion und Allyl-Umlagerung ergaben den C_{15}-Alkohol XXXII, der nach OPPENAUER zum Aldehyd oxydiert wurde.

Auch GOULD und THOMPSON (*13*) beschreiben die Darstellung der Äthinylverbindung. Sie benutzen als Kondensationsmittel tertiäres Kaliumamylat. Die aus dem so erhaltenen Aldehyd entstandenen Kondensationsprodukte lassen jedoch auch in diesem Fall das Vorliegen von einwandfreiem C_{15}-Aldehyd fraglich erscheinen. HEILBRON kondensierte den Aldehyd mit Aceton zum C_{18}-Keton, das nach seinen Angaben eine Substanz vom Fp. 144° darstellt und auf Grund dieses hohen Schmelzpunktes nicht die erwartete Konstitution haben kann [s. ARENS und VAN DORP (*1*), (*2*)]. KARRER und BENZ (*31*) hatten gleichfalls Ionon mit Acetylen umgesetzt, und zwar mit Natrium in flüssigem Ammoniak. Neben dem 1,4-Additionsprodukt erhielten sie ein Carbinol, dem auf Grund des Absorptionsspektrums die Konstitution XXXIII zugeordnet wird. Inwieweit die Ergebnisse KARRERs auf die der anderen Autoren zu übertragen sind, ist fraglich, da von den anderen Autoren andere Kondensationsmittel angewandt wurden.

Die erste klare Synthese des Ionyliden-acetaldehyds nach einem neuen Schema ist von VAN DORP und ARENS (*9*) ausgearbeitet worden.

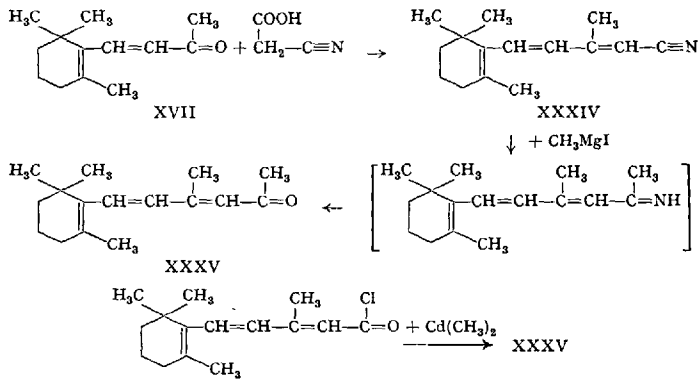


β-Ionon wird mit der GRIGNARD-Verbindung des Äthoxyacetylens zum Carbinol XXIX kondensiert. Diese Verbindung ergibt nach partieller Hydrierung und Allyl-Umlagerung mit Salzsäure den Aldehyd XXVIII. Das Semicarbazon schmilzt von 193—195° und zeigt ein UV-Maximum bei 327 mμ. Die Autoren beabsichtigen, mit diesem einwandfrei charakterisierten Aldehyd die umstrittene Vitamin A-Synthese von KUHN nachzuarbeiten.

7. C_{16}: C_{16}-Keton, Ionyliden-aceton.

Das C_{16}-Keton (XXXV) wurde schon von KARRER als sog. Euionon beschrieben. Er setzte Ionyliden-essigsäurechlorid mit Methylzinkjodid um. Eine nähere Charakterisierung des Ketons durch krystallisierte Derivate gab KARRER nicht an.

Auf verschiedenen Wegen haben YOUNG, ANDREWS und CHRISTOL (*63*) das Keton der β-Reihe sowie das der α-Reihe hergestellt. Umsetzung des Ionyliden-acetonitrils (XXXIV) mit Methylmagnesiumjodid lieferte nach Hydrolyse das Keton XXXV.



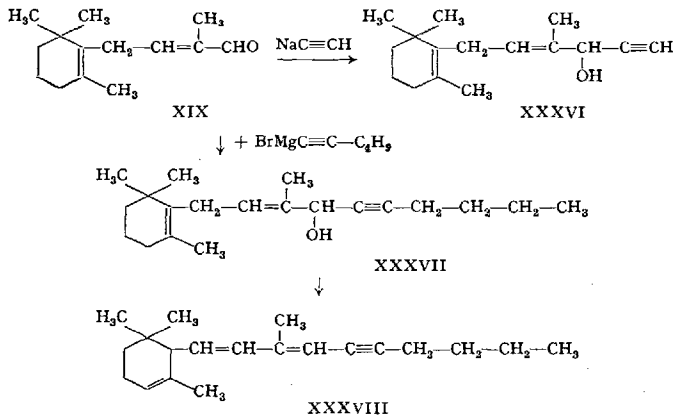
Dasselbe Produkt wurde aus Ionyliden-essigsäurechlorid und Cadmium-dimethyl gewonnen. Die Autoren konnten jedoch kein krystallisiertes Derivat der β-Reihe erhalten, während sie in der α-Reihe ein Semicarbazon mit dem Fp. 162,5—164° beschrieben. Die Spektren vom α- und β-C_{16}-Keton unterscheiden sich hier nur wenig. Aber die Ozonisierung des β-C_{16}-Ketons ergab in normaler Ausbeute Geronsäure.

Eine Synthese des β-C_{16}-Ketons, das durch krystallisierte Derivate eindeutig charakterisiert werden konnte, beschreiben INHOFFEN, BOHLMANN und BARTRAM (*24*). Das erhaltene Semicarbazon schmilzt bei 165—166° und zeigt ein UV-Maximum bei 308 mμ. Es wurde ebenfalls der Weg über das Ionyliden-acetonitril (XXXIV) beschritten. Das Nitril konnte in Anisol bei etwa 90° mit Methylmagnesiumjodid umgesetzt werden. Bei dieser Temperatur ist die Reaktion schnell beendet, während in Äther (s. YOUNG und Mitarbeiter) nur eine sehr langsame Umsetzung zu beobachten ist. Das nach längerer Hydrolyse des recht beständigen Imins erhaltene Keton (XXXV) wird mit GIRARDs Reagens und durch anschließende Chromatographie gereinigt.

8. C_{16}: C_{16}-Äthinyl-Verbindungen und einige andere Kondensationsprodukte des C_{14}-Aldehyds.

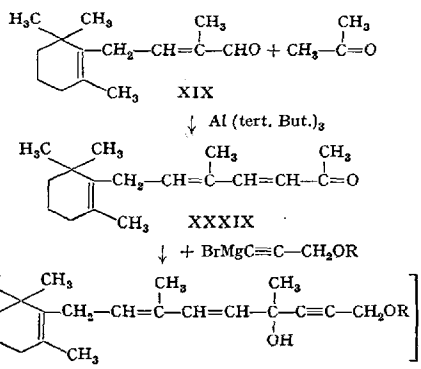
In ihren Arbeiten zur Synthese des Vitamin A haben HEILBRON und Mitarbeiter (*21*) den C_{14}-Aldehyd (XIX) mit Natrium-acetylid in flüssigem Ammoniak kondensiert. Die so dargestellte Äthinyl-Verbindung XXXVI wurde durch ein Acetat sowie durch Bestimmung des aktiven Wasserstoffs näher definiert. MILAS und Mitarbeiter (*48*) haben ihren C_{14}-Aldehyd ebenfalls in die C_{16}-Äthinyl-Verbindung übergeführt.

Zur Wasserabspaltung wurde das Carbinol mit Pyridin-Thionylchlorid behandelt und aus dem entstandenen Chlorid mit alkoholischer Kalilauge Salzsäure abgespalten. Der so gewonnene Kohlenwasserstoff hat ein UV-Maximum bei 286 mμ. Beide Verbindungen, das Carbinol und den Kohlenwasserstoff, benutzten MILAS und Mitarbeiter (*47*) zu Synthese-Versuchen in der Vitamin A-Reihe.



Beim Umsatz von C_{14}-Aldehyd mit der GRIGNARD-Verbindung des Hexin-1 sowie des 2-Methoxyhexen-3-ins-5 erhalten CYMERMAN und HEILBRON (*7*) Carbinole vom Typ XXXVII. Nach Allyl-Umlagerung mit wenig Schwefelsäure, Überführung in das Chlorid und HCl-Abspaltung mit alkoholischer Lauge erhalten die Autoren Verbindungen, denen sie auf Grund der Spektren die Konstitution XXXVIII zuordnen. Es müßte also eine Umlagerung in die α-Reihe eingetreten sein. Auf jeden Fall stehen nicht alle Doppelbindungen zueinander in Konjugation.

In der gleichen Arbeit haben CYMERMAN und HEILBRON (*7*) C_{14}-Aldehyd mit Aceton in Gegenwart von tertiärem Aluminiumbutylat kondensiert. Das Keton der β-Reihe (XXXIX) zeigt ein Maximum

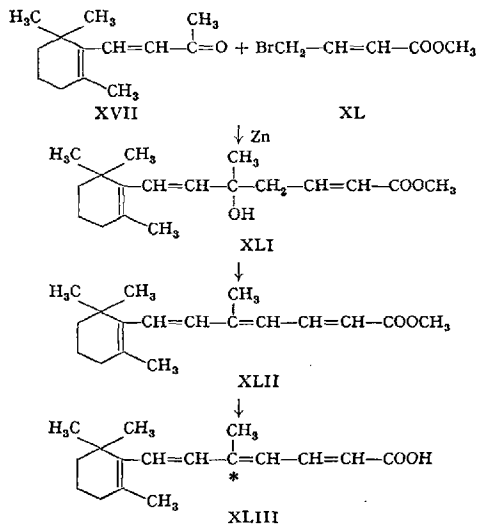


bei 285 mμ und gibt ein Semicarbazon vom Fp. 189—190° (UV-Maximum 293 mμ). Das entsprechende Keton der α-Reihe besitzt ein Maximum bei 282,5 mμ, während das zugehörige Semicarbazon bei 162° schmilzt.

Beide Ketone wurden mit der GRIGNARD-Verbindung des Propargyläthers umgesetzt, jedoch konnte nach partieller Hydrierung, Allyl-Umlagerung und Wasserabspaltung nicht der gewünschte Iso-Vitamin A-Äther erhalten werden [HEILBRON und Mitarbeiter (*22*)].

9. C_{17}: C_{17}-Säure, Ionyliden-crotonsäure.

Die C_{17}-Säure (XLIII) wurde erstmals von INHOFFEN (*24*) in gemeinsamer Arbeit mit den holländischen Chemikern ARENS und VAN DORP (*1*), (*2*) dargestellt. Ein wichtiges Ausgangsmaterial für diese Synthese ist der γ-Bromcrotonsäureester. Dieser Ester war erst auf Grund systematischer Studien von ZIEGLER und Mitarbeitern (*64*) leicht zugänglich geworden. ZIEGLER hatte festgestellt, daß ungesättigte Substanzen bei Behandlung mit N-Bromsuccinimid in Allylstellung bromiert werden, ohne daß hierbei die Doppelbindungen in Reaktion treten. Der γ-Bromcrotonsäureester läßt sich nun, wie schon ZIEGLER angab, genau so wie Bromessigester für REFORMATZKY-Reaktionen verwenden.



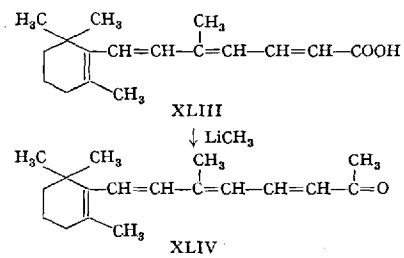
β-Ionon wurde mit γ-Bromcrotonsäureester und Zink in Benzol umgesetzt; man erhielt zunächst den Oxyester LXI, der bereits bei der Destillation im Hochvakuum Wasser abspaltete. Die Verseifung führte dann zur C_{17}-Säure (XLIII), die in derben gelben Krystallen vom Fp. 158—160° erhalten wurde. Das UV-Maximum liegt bei 323 mμ.

Aus der Mutterlauge konnte noch eine isomere Säure isoliert werden, die bei 141—143° schmilzt und ebenfalls bei 320 mμ ein UV-Maximum besitzt, allerdings mit geringerer Extinktion. Auf Grund dieser Tatsache haben ARENS und VAN DORP (*5*) dieser Säure die cis-Konfiguration zugeordnet, während die Säure vom Fp. 158—160° die trans-Form darstellt. Beide Säuren geben nach der Perhydrierung identische N-p-Brombenzyl-isothioharnstoffsalze (*5*). Das in Formel XLIII bezeichnete C-Atom ist nach theoretischen Überlegungen von PAULING (*57*) das einzige, bei dem eine cis-trans-Isomerie in Frage kommt. Daher existieren nur zwei cis-trans-isomere C_{17}-Säuren. An allen übrigen Doppelbindungen liegt trans-Konfiguration vor, da die cis-Formen sterisch nicht möglich sind (*65*).

Die Synthese der C_{17}-Säure wurde nach demselben Schema ebenfalls von KARRER und Mitarbeitern (*34*) sowie von HEILBRON und Mitarbeitern (*20*) durchgeführt. KARRER (*34*), (*40*) hat die Reaktion auch auf α-Ionon übertragen und erhielt die α-C_{17}-Säure vom Fp. 139—141° (UV-Maximum 306 mμ).

10. C_{18}: C_{18}-Keton (XLIV).

Das C_{18}-Keton ist von INHOFFEN (*24*) gemeinsam mit ARENS und VAN DORP (*1*), (*2*) dargestellt worden. Trans-C_{17}-Säure (XLIII) wurde mit Lithiummethyl umgesetzt, wobei das Keton (XLIV) in guter Ausbeute erhalten werden konnte.

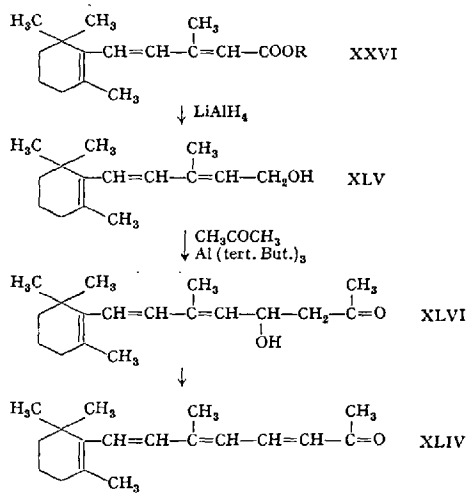


Dieses wurde über das Semicarbazon vom Fp. 189° (UV-Maximum 347 mμ) gereinigt. Das reine Keton ließ sich bei −80° zur Krystallisation bringen (*5*). Nach Umkrystallisation aus Äther schmilzt das Keton von 37,5—38,5°. Mit Antimon-trichlorid in Chloroform gibt es eine weinrote Färbung. Aus cis-C_{17}-Säure haben ARENS und VAN DORP (*5*) das cis-C_{18}-Keton dargestellt. Es liefert ein Semicarbazon vom Fp. 142,5—143,5° (Maximum 340 mμ).

Im Hinblick auf die große Bedeutung dieses Ketons für Synthesen in der Vitamin A-Reihe haben auch andere Autoren nahezu gleichzeitig eine Synthese dieses Ketons durchgeführt. KARRER und Mitarbeiter (*34*) überführten die C_{17}-Säure zunächst in das Chlorid und setzten dieses

mit Methylzinkjodid um. Die Ausbeute war hier jedoch wesentlich geringer. HEILBRON und Mitarbeiter (*20*) setzten das Säurechlorid mit Cadmium-dimethyl um. Aber auch in diesem Fall ließ die Ausbeute zu wünschen übrig.

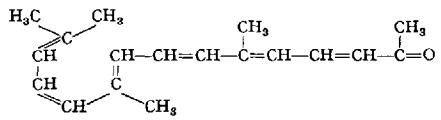
Einen ganz anderen Weg beschreiten MILAS und Mitarbeiter (*51*). Ionyliden-essigester (XXVI) wird mit Lithium-aluminiumhydrid zum C_{15}-Alkohol reduziert. — Lithium-aluminiumhydrid ist ein Reduktionsmittel, das von FINHOLD, BOND und SCHLESINGER (*10*) in die organische Chemie eingeführt worden ist. Es hat die seltene Eigenschaft, daß es Carbonsäurederivate und Carbonylverbindungen zu den entsprechenden Alkoholen reduziert, meistens ohne daß hierbei vorhandene Doppelbindungen angegriffen werden. — Nach MILAS (*51*) besitzt der C_{15}-Alkohol (XLV) ein Maximum bei 274 mμ.



Dieser Alkohol wird mit tertiärem Aluminiumbutylat in Gegenwart von Aceton oxydiert, wobei der intermediär entstehende C_{15}-Aldehyd sofort mit Aceton eine Kondensation eingeht. Es bildet sich zunächst das Oxyketon XLVI, das durch Wasserabspaltung in das bekannte C_{18}-Keton (XLIV) übergeht; es wurde durch das UV-Spektrum charakterisiert. Prinzipiell der gleiche Weg ist bereits von HEILBRON und Mitarbeitern(*17*) beschritten worden. Diese Autoren erhielten allerdings nicht das gewünschte Endprodukt. Auf Grund des hohen Schmelzpunktes muß man wohl annehmen, daß bei dieser Reaktionsfolge eine Cyclisierung stattgefunden hat.

Die Synthese eines offenen C_{18}-Ketons mit 6 konjugierten Doppelbindungen wurde von F. G. FISCHER und SCHULZE (*11*) durchgeführt. Die von FISCHER eingehend studierte Kondensation von Methylbutenal

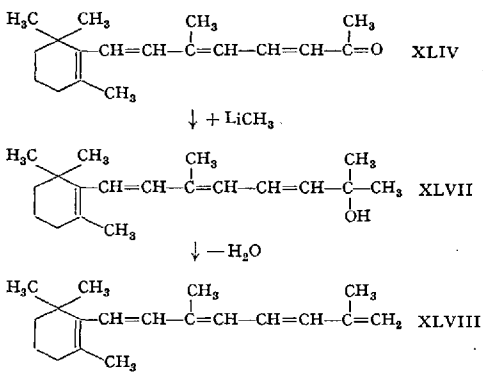
(C_5) vermittels Piperidinacetat als Katalysator führt über Dehydrocitral (C_{10}) zum Farnesinal (C_{15}). Dieser Aldehyd konnte dann mit Aceton zum offenen C_{18}-Keton kondensiert werden;



Das Keton zeigt einen Fp. von 148—149° und soll für weitere Umsetzungen zu Vitamin A-ähnlichen Stoffen Verwendung finden.

11. C_{19} und C_{20}: Kohlenwasserstoffe C_{19} und C_{20}.

KARRER und BENZ (*30*) haben C_{17}-Säure (XLIII) mit einem großen Überschuß von Lithiummethyl umgesetzt und auf diese Weise über das *Keton XLIV* das Carbinol XLVII erhalten.

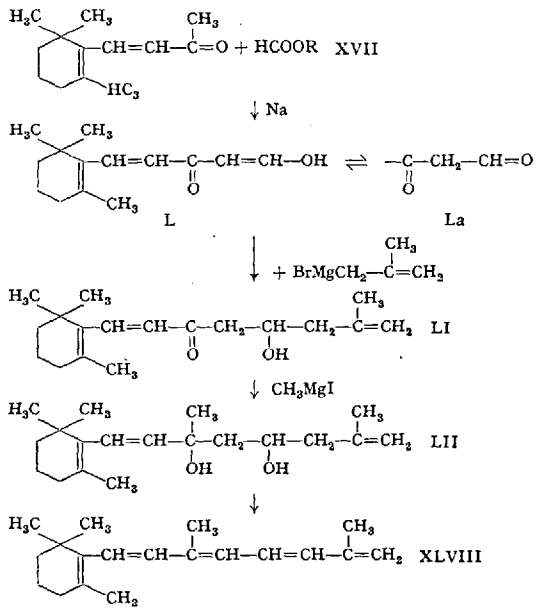


Durch Wasserabspaltung gelangten sie zu einem Kohlenwasserstoff mit 5 konjugierten Doppelbindungen, dem sie den Namen Desmethylaxerophten gaben (XLVIII).

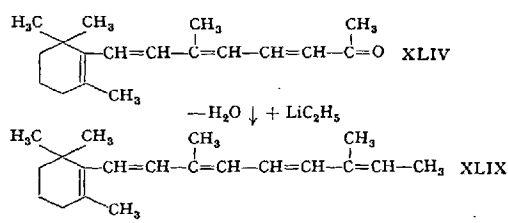
Denselben Kohlenwasserstoff haben auch SHANTZ und Mitarbeiter (*61*) dargestellt. Ionon wurde mit Ameisensäureester in Gegenwart von Natrium zum Oxymethylen-ionon (L) kondensiert.

Diese Verbindung stellt die Enolform eines Keto-aldehyds (La) dar, der mit GRIGNARD-Verbindungen primär an der Aldehydgruppe in Reaktion tritt. Zum Beispiel beim Umsatz mit der GRIGNARD-Verbindung von Methyl-allylbromid erhielten die Autoren zunächst das Oxyketon LI, welches beim Umsatz mit Methylmagnesiumjodid weiterhin an der Ketogruppe reagierte, so daß schließlich das Diol LII erhalten wurde. Anschließende Wasserabspaltung führte dann zu dem Kohlen-

wasserstoff XLVIII mit 5 konjugierten Doppelbindungen, der identisch war mit dem von KARRER dargestellten Desmethyl-axerophten (C_{19}).



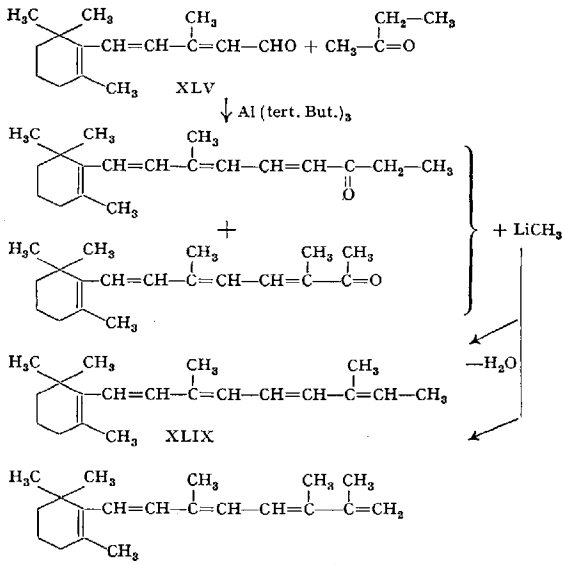
Der dem Vitamin A zugrunde liegende Kohlenwasserstoff, das Axerophten (C_{20}), ist ebenfalls von KARRER und BENZ (*32*) dargestellt worden. Sie setzten C_{18}-Keton XLIV mit Lithium-äthyl um und erhielten nach Wasserabspaltung als Hauptprodukt den Kohlenwasserstoff XLIX. Als Nebenprodukt entsteht ein Keton, das seine Bildung einer 1,4-Addition von Lithiumäthyl verdankt. Dieser Kohlenwasserstoff zeigt Absorptionsmaxima bei 331, 346 und 364 mμ.



Im Vergleich zum Vitamin A-Alkohol bedeutet dies also eine verhältnismäßig langwellige Absorption, während sich der Kohlenwasserstoff in die Reihe der Homologen gut einordnet.

Inzwischen haben KARRER und BENZ (*32a*) eine weitere Methode zur Darstellung von Axerophten beschrieben. C_{15}-Aldehyd wird mit Methyl-äthylketon kondensiert und das entstandene Keton mit Lithiummethyl

umgesetzt. Die nachfolgende Wasserabspaltung soll dann zum Axerophten (XLIX) führen. Da bei der Kondensation zwei verschiedene Ketone entstehen können, ist der erhaltene Kohlenwasserstoff uneinheitlich.



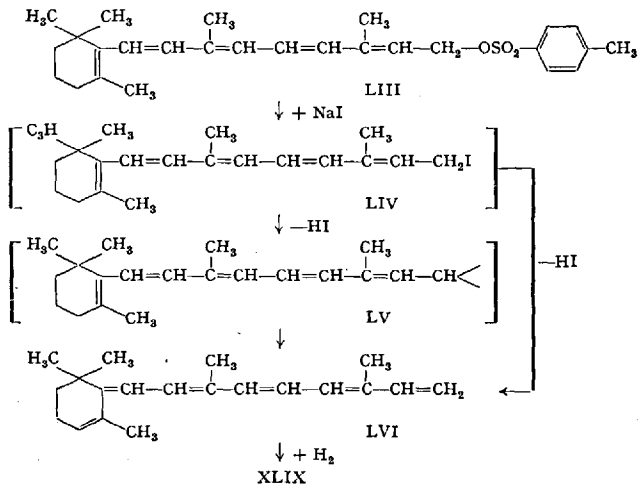
Nach H. v. EULER und P. KARRER (*9a*) besitzt Axerophten etwa $^1/_5$ der Wirksamkeit von β-Carotin. Auch einige verwandte Kohlenwasserstoffe wurden untersucht. Die Verbindungen mit einem Mehr- oder Mindergehalt an Methylgruppen waren alle unwirksam.

Soeben erschien eine Arbeit von KARRER, KARANTH und BENZ (*34a*), in der die Synthese des Iso-axerophtens beschrieben wird. Die Autoren stellen das α-C_{18}-Keton nach der Methode von MILAS (*51*) dar und setzen dieses mit Lithiumäthyl um. Nach Wasserabspaltung erhalten sie das Iso-axerophten mit dem α-Iononring. (UV-Maxima 324, 308, 295 mμ.)

Der entsprechende Kohlenwasserstoff mit sechs konjugierten Doppelbindungen, das Anhydro-Vitamin A, entsteht aus Vitamin A bei verschiedenen Wasserabspaltungsreaktionen. Ein neuer Weg wurde von KARRER und SCHWYZER (*42*) beschritten. Die Autoren setzten den Toluolsulfosäureester des Vitamin A (LIII) mit Natriumjodid um, in der Hoffnung, auf diese Weise das Jodid des Vitamin A zu erhalten. Als Hauptreaktionsprodukt entstand jedoch Anhydro-Vitamin A, dessen Bildung so erklärt wird, daß das intermediäre Jodid (LIV) sofort Jodwasserstoff abspaltet, wonach sich das radikalartige Zwischenprodukt LV zum Anhydro-Vitamin A LVI stabilisieren soll.

Als Nebenreaktion glaubte KARRER eine Dimerisierung dieses Radikals zu Carotin beobachtet zu haben. Auf Grund der Spektren

wurde vermutet, daß geringe Mengen β-Carotin in diesem Gemisch enthalten seien, aber eine Isolierung und eindeutige Charakterisierung ist bisher nicht gelungen. Interessant ist, daß man durch vorsichtige



partielle Hydrierung vom Anhydro-Vitamin A zum Axerophten gelangen konnte, LVI→XLIX. Dies bedeutet also, daß es möglich ist, auch durch katalytische Hydrierung an den Enden einer Konjugation partiell Wasserstoff anzulagern. Das Anhydro-Vitamin A hat KARRER (*42*) durch Chromatographie gereinigt und zum Krystallisieren gebracht.

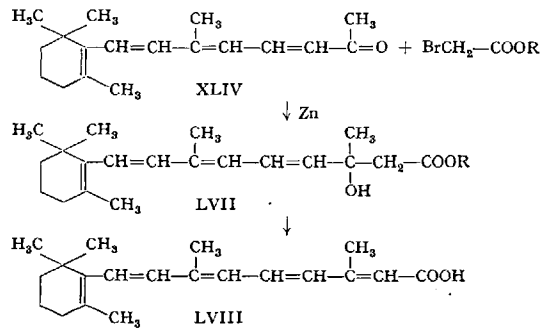
(Fp. 75°, UV-Absorptionsmaxima 347, 368 und 390 mμ.)

12. C_{20}: C_{20}-Säure, Vitamin A-Säure.

Auf Grund der zahlreichen Befunde über Beziehungen zwischen Konstitution und Wirksamkeit bei anderen Vitaminen und Hormonen schien es erstrebenswert, eine Synthese des Vitamin A von vornherein auch auf Verbindungen mit abgewandelter Konstitution zu erweitern, da anzunehmen war, daß auch bei diesem Vitamin die Wirkung nicht streng an die Konstitution des natürlichen Wirkstoffes gebunden sei. Die Richtigkeit dieser Überlegungen wurde in der Folgezeit durch mehrere Beispiele bewiesen. Die Synthese eines biologisch hochwirksamen Stoffes, der Vitamin A-Säure, hat INHOFFEN gemeinsam mit ARENS und VAN DORP (*1*), (*2*) durchgeführt. Das C_{18}-Keton (XLIV) wurde nach REFORMATZKI mit Zink und Bromessigester umgesetzt.

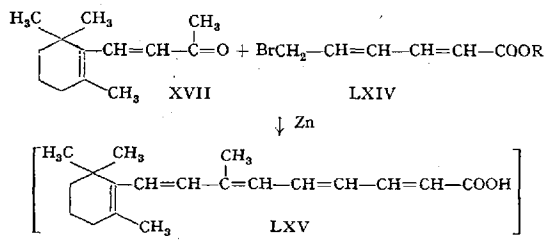
Der primär entstehende Oxyester LVII ergab nach Wasserabspaltung und Verseifung die krystallisierte Vitamin A-Säure (LVIII). Die Vitamin A-Säure bildet gelbe Krystalle vom Fp. 181,5° mit einem UV-Maximum bei 343 mμ. Am Tier hat sich diese Säure als biologisch

hochwirksam erwiesen, besonders als Natriumsalz — auf p_H 10 gepuffert — zeigt sie oral praktisch die gleiche Wirksamkeit wie natürliches Vitamin A. Dies erscheint besonders wichtig, weil die Säure als Natriumsalz wasserlöslich ist und infolgedessen für die Resorption wahrscheinlich kein Fett benötigt.

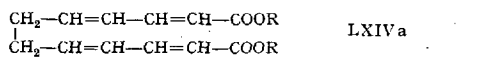


Fast gleichzeitig haben KARRER und Mitarbeiter (*34*) auf prinzipiell gleichem Wege die C_{20}-Säure dargestellt und die Reaktion auch in die α-Reihe übertragen, ohne allerdings eine genauere Charakterisierung der beiden C_{20}-Säuren anzugeben.

Versuche, zu einer nor-Vitamin A-Säure LXV zu gelangen, sind von KARRER (*41*) und HEILBRON (*20*) durchgeführt worden. Sie versuchten, Ionon mit Hilfe der REFORMATZKI-Reaktion mit ε-Bromsorbinester zu kondensieren.



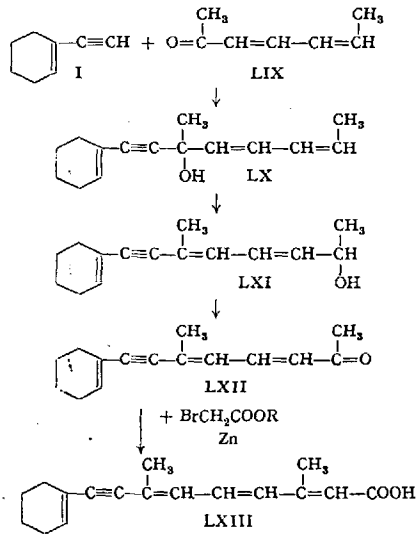
Es hatte sich nämlich gezeigt, daß die ZIEGLERsche ω-Bromierung sich auch auf Sorbinester übertragen läßt. Leider gelang es aber nicht, diesen Bromester (LXIV) nach REFORMATZKI umzusetzen. Als einziges Reaktionsprodukt konnte lediglich der Diester LXIVa isoliert werden, der seine Bildung einer WURTZschen Synthese verdankt.



LXIVa

Die Synthese einer Desmethyl-dehydro-Vitamin A-Säure wurde von HEILBRON und Mitarbeitern (*15*) beschrieben. Man kondensierte Äthinyl-

cyclohexen (I) mit Crotyliden-aceton (LIX) über die GRIGNARD-Verbindung und führte das so erhaltene Carbinol LX durch Allyl-Umlagerung in das Carbinol LXI über.

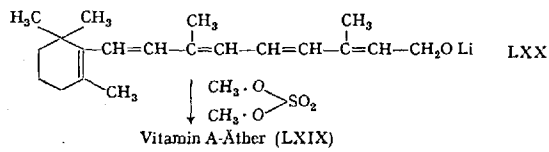


Diese Allyl-Umlagerungen sind von HEILBRON und Mitarbeitern (*18*), (*19*), (*29*) an vielen Beispielen ausgiebig studiert worden. Es konnte hierbei festgestellt werden, daß sich diese anionotropen Umlagerungen relativ leicht mit geringen Mengen Mineralsäure durchführen lassen. Im Verlauf dieser Untersuchungen zeigte es sich weiterhin, daß derartige Umlagerungen auch über ein mehrfach konjugiertes System von Doppelbindungen hinweg möglich sind. Das Studium dieser Reaktion hat für die Synthesen in der Vitamin A-Reihe große Bedeutung erlangt.

HEILBRON hat das Carbinol LXI nach OPPENAUER zum Keton LXII oxydiert. Dieses Keton wurde nach REFORMATZKI mit Bromessigester umgesetzt, und nach Wasserabspaltung und Verseifung wurde die Desmethyl-dehydro-Vitamin A-Säure (LXIII) erhalten. Diese Säure hat sich als schwach biologisch wirksam erwiesen.

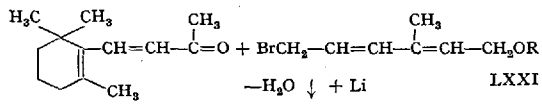
13. C_{20}: Vitamin A-Äther.

Der Vitamin A-Methyl-äther wurde in neuerer Zeit von HANZE und Mitarbeitern (*14*) in krystallisiertem Zustand aus natürlichem Vitamin A durch Umsatz des Lithiumsalzes (LXX) mit Dimethylsulfat erhalten.



Er schmilzt bei 33—34° (UV-Maximum 326 mμ). Es zeigte sich, daß dieser Äther praktisch die gleiche Wirksamkeit besitzt wie das Vitamin A selbst.

Die Synthese von Vitamin A-Äthern war das Ziel vieler Arbeiten. Zum ersten Male berichteten hierüber KIPPING und WILD (*44*). Diese Autoren geben an, beim Umsatz von β-Ionon (XVII) mit der Lithiumverbindung des Bromids LXXI Vitamin A-Methyläther (LXIX) gewonnen zu haben.



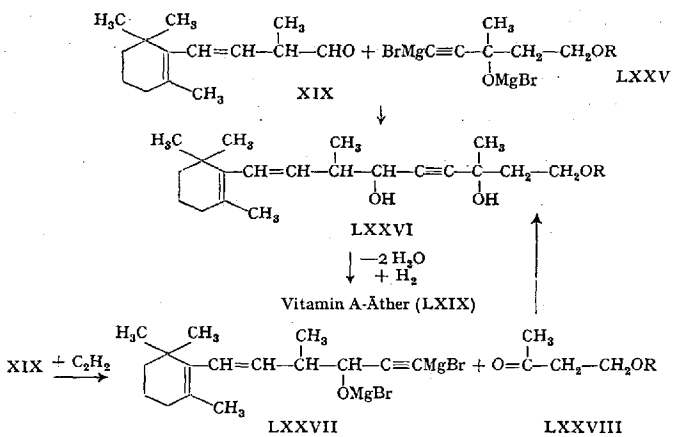
Vitamin A-Äther (LXIX)

Sie konnten allerdings noch keine experimentellen Einzelheiten und keine Charakterisierung ihres öligen Äthers angeben.

Nachdem sich immer wieder gezeigt hat, daß β-Ionon für derartige Kondensationen offenbar nicht gut geeignet ist, haben zuerst HEILBRON und Mitarbeiter (*22*) erkannt, daß der C_{14}-Aldehyd (XIX) für Synthesen in der Vitamin A-Reihe von Bedeutung sein könnte.

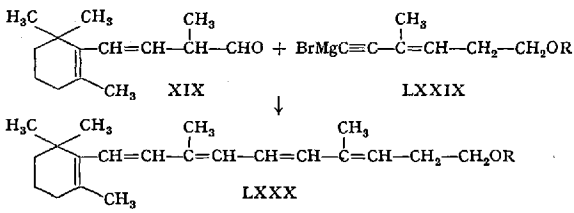
Es ist ihnen aber nicht gelungen, durch Kondensation von C_{14}-Aldehyd mit dem C_6-Äther LXXV oder auf anderen Wegen zum Vitamin A-Äther zu gelangen, LXXVI→LXIX.

MILAS und Mitarbeiter (*52*) haben in ihren Arbeiten ebenfalls den C_{14}-Aldehyd (XIX) als Ausgangsmaterial benutzt und untersuchten verschiedene Wege zum Vitamin A-Äther. Zunächst kondensierten sie C_{14}-Aldehyd mit Acetylen, und darauf das so erhaltene C_{16}-Äthinylcarbinol (LXXVII) sowie auch dessen Wasserabspaltungsprodukt mit Keto-butanoläther LXXVIII. Das Carbinol LXXVII lieferte das Diol LXXVI.

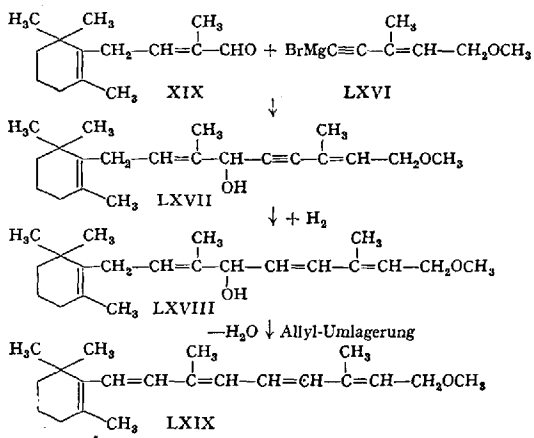


Dasselbe Produkt wurde erhalten, als man C_{14}-Aldehyd mit dem Acetylen-Anlagerungsprodukt von Keto-butanoläther (LXXV) kondensierte; dieses Diol war zum Teil krystallisiert. Die Wasserabspaltung ließ sich auf verschiedenen Wegen bewerkstelligen. Mit Toluolsulfosäure gelang sie direkt. Günstiger aber war der Umweg über die Bromide. Aus den mit Phosphortribromid gewonnenen Bromiden konnte mittels alkoholischer Kalilauge Bromwasserstoff unter Bildung des Dehydro-Vitamin A-Äthers abgespalten werden. Nach vorheriger partieller Hydrierung der 3fach-Bindung ließ sich auf analoge Weise Vitamin A-Äther (LXIX) gewinnen. Die ausnahmslos ölig erhaltenen Produkte sind biologisch wirksam.

Nach einem sehr ähnlichen Schema haben MILAS und Mitarbeiter (*49*) die Synthese eines homo-Vitamin A-Äthers (LXXX) durchgeführt: C_{14}-Aldehyd (XIX) wurde mit der GRIGNARD-Verbindung LXXIX umgesetzt und nach Wasserabspaltung und partieller Hydrierung der homo-Vitamin A-Äther (LXXX) erhalten, der ebenfalls physiologisch wirksam sein soll.



Vitamin A-Methyläther in 85%iger Reinheit ist von ISLER, HUBER, RONCO und KOFLER (*27*) synthetisiert worden. Die Schweizer Autoren benutzten das Schema von HEILBRON. C_{14}-Aldehyd (XIX) wurde mit der GRIGNARD-Verbindung von 3-Methyl-5-methoxy-penten-3-in-1 (LXVI) umgesetzt; dieser Äther war gleichfalls schon von HEILBRON

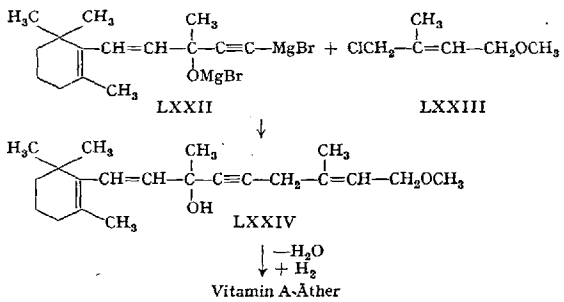


dargestellt worden. Als Kondensationsprodukt wurde von ISLER das Carbinol LXVII erhalten.

Dieses wurde nun partiell hydriert zum Carbinol LXVIII. Allyl-Umlagerung und Wasserabspaltung gelangen schon mit Spuren von Jod in siedendem Toluol. Durch wiederholte Chromatographie an Aluminiumoxyd wurde ein Öl erhalten, das auf Grund des Spektrums (Maximum 326—328 mμ) und der biologischen Wirksamkeit zu 85% aus Vitamin A-Methyläther (LXIX) besteht.

Inzwischen ist es ISLER und Mitarbeitern (*28a*) gelungen, den Äther durch Animpfen mit dem Methyläther aus natürlichem Vitamin A zur Krystallisation zu bringen (Fp. 34—35°).

In einer kurzen vorläufigen Mitteilung berichtet OROSHNIK (*56*) ebenfalls über eine Vitamin A-Äther-Synthese. Er benutzte als Ausgangsmaterial die Äthinyl-Verbindung vom β-Ionon (LXXII), die er über die GRIGNARD-Verbindung mit dem Chlorid LXXIII umsetzte. Dieses Chlorid entstand neben dem 1,2-Additionsprodukt aus Isopren durch Umsatz mit tertiärem Butyl-hypochlorit in Methanol.



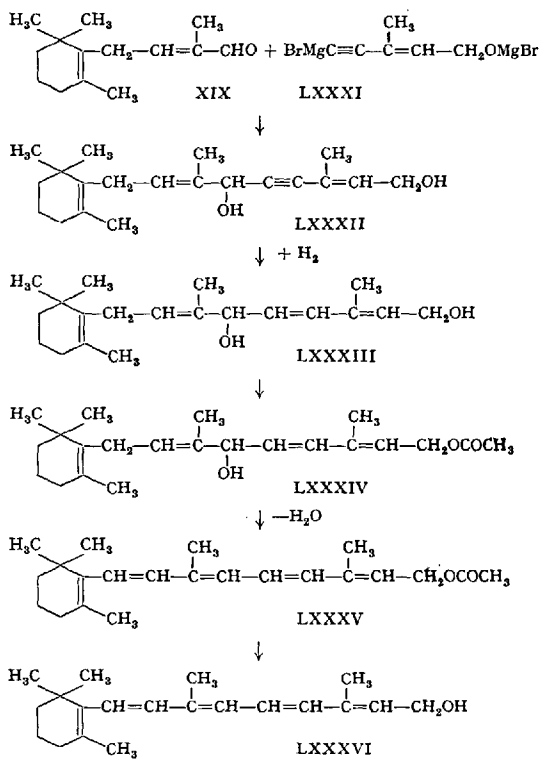
Das so erhaltene Carbinol LXXIV wurde partiell hydriert, und durch Wasserabspaltung mittels p-Toluolsulfosäure müßte der Vitamin A-Methyläther (LXIX) entstehen. Das erhaltene Öl zeigte ein UV-Maximum bei 315 mμ (aus natürlichem Vitamin A 326 mμ); das Präparat soll Vitamin A-Wirksamkeit besitzen. Auf Grund des Spektrums muß man aber wohl annehmen, daß zumindest kein einheitliches Produkt vorliegt, eventuell handelt es sich um einen isomeren Äther [vgl. ISLER und Mitarbeiter (*27*)].

14. C_{20}: Vitamin A-Alkohol.

Bereits in den Jahren 1932—33 war es möglich gewesen, die Konstitution des Vitamin A aufzuklären. Aber obwohl es an zahlreichen Versuchen nicht gefehlt hat, ist die Synthese als endgültiger Konstitutionsbeweis erst im Jahre 1947 eindeutig gelungen. Die elegante Synthese, die zu einem krystallisierten und eindeutig charakterisierten

Vitamin A-Alkohol führte, ist schließlich in der Schweiz bei der Firma Hoffmann-La Roche ISLER, HUBER, RONCO und KOFLER (*28*) geglückt. Das große Verdienst dieser Chemiker ist es, daß sie für die Darstellung des wichtigen Ausgangsproduktes C_{14}-Aldehyd eine wirklich brauchbare Methode zu entwickeln vermochten. Erst dadurch ist es möglich geworden, die weiteren Reaktionen erfolgreich zu beenden.

Der für die Synthese außerdem benötigte C_6-Alkohol (LXXXI) war bereits von CYMERMAN und HEILBRON (*6*) beschrieben. Methylvinylketon wurde mit Acetylen kondensiert und das entstehende Carbinol nach der von HEILBRON erprobten Methode durch Allyl-Umlagerung in den C_6-Alkohol (LXXXI) übergeführt. Durch Umsatz mit 2 Mol Äthylmagnesiumbromid ließ sich dieser Alkohol in die GRIGNARD-Verbindung LXXXI umwandeln und darauf mit C_{14}-Aldehyd kondensieren. Als Reaktionsprodukt entstand das Diol LXXXII.



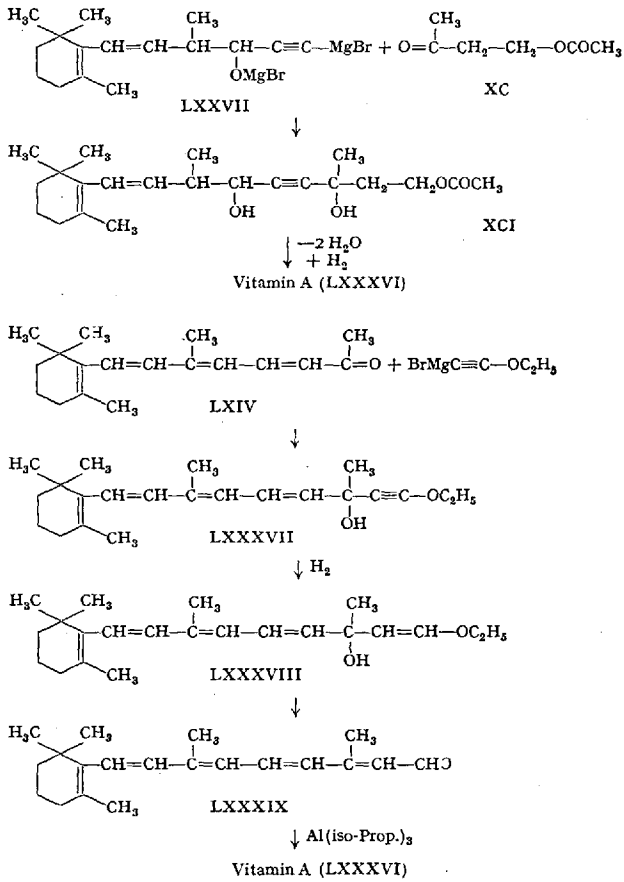
Es ließ sich durch Verteilung zwischen Petroläther und 75%igem Methanol praktisch rein und in guter Ausbeute erhalten. Das Diol konnte inzwischen krystallisiert erhalten werden, Fp. 58—59° (UV-Maximum 229 mμ) [ISLER und Mitarbeiter (*28a*)]. Für die partielle Hydrierung

eignete sich am besten Palladiumkohle, an die vor Gebrauch Chinolin adsorbiert war. Das entstandene Diol LXXXIII zeigte noch keine UV-Absorption oberhalb 260 mμ. Das Diol LXXXIII krystallisiert aus Petroläther bei —10°; es zeigt einen Fp. von 73—74° [ISLER und Mitarbeiter (*28a*)]. Durch partielle Acetylierung wurde hieraus das Monoacetat LXXXIV gewonnen und letzteres in der Siedehitze mit Jod in hochsiedendem Petroläther behandelt, wobei sich unter Allyl-Umlagerung Wasser abspaltete. — In einer jüngst erschienenen Arbeit beschreiben ISLER und Mitarbeiter (*28a*) eine andere Wasserabspaltungsmethode. Sie erhielten auf diese Weise in guter Ausbeute krystallisiertes Vitamin A-Acetat (Fp. 57—58°). Außerdem wurde in dieser Veröffentlichung die Darstellung weiterer synthetischer Ester und Äther des Vitamin A-Alkohols beschrieben, die zum Teil auch krystallisiert erhalten wurden. — Das noch sehr unreine Vitamin A-Acetat (LXXXV) konnte im Durchlaufchromatogramm an Aluminiumoxyd gereinigt werden, so daß ein 50%iges Konzentrat anfiel. Dieses Produkt lieferte nach der Verseifung und Wiederveresterung verschiedene prachtvoll krystallisierende Vitamin A-Ester. Als besonders geeignet hat sich der β-Anthrachinoncarbonsäure-ester erwiesen, der nach chromatographischer Reinigung gelbe Krystalle vom Fp. 122—123° bildete. Mit dem Ester aus natürlichem Vitamin A ergab sich keine Schmelzpunktsdepression. Durch Verseifung dieses Esters ließ sich krystallisiertes Vitamin A erhalten, das nach Umkrystallisieren einen Schmelzpunkt von 60—62° aufwies. ROBESON und BAXTER (*58*) haben aus natürlichem Vitamin A zwei verschiedene Krystallfraktionen isoliert. Eine vom Fp. 62—64° und eine vom Fp. 58—60°, die sich wahrscheinlich durch cis-trans-Isomerie unterscheiden. Möglicherweise stellt auch das synthetisch erhaltene Vitamin A ein Gemisch dieser beiden Isomeren dar. Der Vergleich der UV- und Ultrarotspektren von natürlichem und synthetischem Vitamin A bewies eindeutig ihre Identität; ebenso der Vergleich des Anhydro-Vitamin A aus natürlichen und synthetischen Präparaten.

Alle übrigen Synthesen, die in der Literatur beschrieben sind, haben nicht zu eindeutig charakterisiertem, krystallisiertem Vitamin A geführt. MILAS und Mitarbeiter (*47*) kondensierten die C_{16}-Äthinyl-Verbindung LXXVII mit Keto-butanol-acetat zum Diol XCI und geben an, daß sie nach partieller Hydrierung und Wasserabspaltung über das Vitamin A-Acetat zum Vitamin A gekommen seien; allerdings sind auch hier von MILAS keinerlei experimentelle Einzelheiten veröffentlicht worden.

Eine ganz andere Synthese wird von VAN DORP und ARENS (*9*) beschrieben. Diese Autoren benutzten das C_{18}-Keton (XLIV) als Ausgangsmaterial und setzten es mit der GRIGNARD-Verbindung von Äthoxyacetylen um. Sie erhielten das Carbinol LXXXVII, das nach partieller

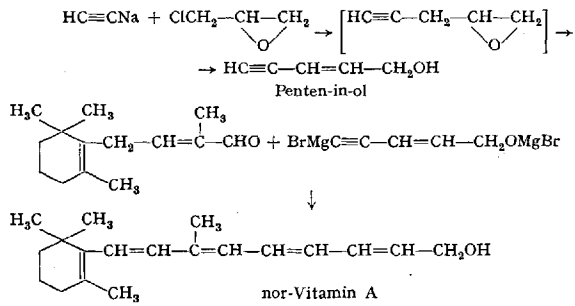
Hydrierung in das Carbinol LXXXVIII und dieses durch anschließende Behandlung mit verdünnter Salzsäure unter Allyl-Umlagerung in den Vitamin A-Aldehyd umgewandelt werden konnte.



Der Aldehyd wurde durch das Semicarbazon vom Fp. 206—207° charakterisiert; das UV-Maximum liegt bei 375 mμ. Die Reduktion des Aldehyds LXXXIX nach MEERWEIN-PONNDORF führte zu einem Öl, das auf Grund des Spektrums und der biologischen Wirksamkeit etwa 35% Vitamin A enthalten müßte. In einer weiteren Arbeit haben ARENS und VAN DORP (*4*) die Darstellung von Vitamin A-Säure-thio-ester beschrieben und hierbei festgestellt, das sich REFORMATZKI-Reaktionen auch mit Bromessigsäure-thio-ester durchführen lassen. Die so erhaltenen Thio-ester sollen nach bekannten Verfahren mit RANEY-Nickel zu den entsprechenden Aldehyden reduziert werden. Vitamin A-Aldehyd konnte jedoch auf diese Weise noch nicht erhalten werden.

Eine weitere Synthese des Vitamin A wird soeben von SCHWARZKOPF, CAHNMANN, LEWIS, SWIDINSKY und WÜEST (*60a*) beschrieben. Die Autoren haben krystallisierte Vitamin A-Säure (LVIII) mit Diazomethan verestert und den Ester mit Lithium-aluminium-hydrid zum Alkohol reduziert. Der Alkohol konnte durch das krystallisierte Vitamin A-Acetat (Fp. 53—56°) charakterisiert werden.

HEILBRON (*15*) gibt an, daß es ihm gelungen sei, nor-Vitamin A darzustellen. Er benutzte praktisch den gleichen Weg wie ISLER und Mitarbeiter (*28*) bei ihrer Vitamin A-Synthese. An Stelle des C_6-Alkohols stellte er nach einem neuen Verfahren aus Epichlorhydrin durch Kondensation mit Natriumacetylid den methyl-freien C_5-Alkohol Penten-in-ol dar.



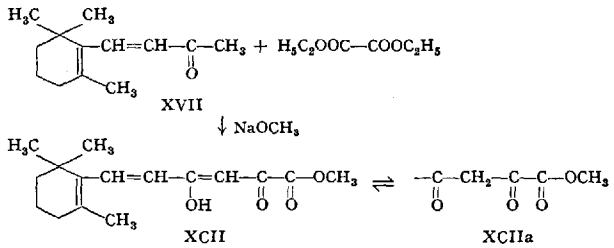
Nach Kondensation mit C_{14}-Aldehyd erhält man auf dem üblichen Wege nor-Vitamin A; dieser Alkohol besitzt bereits Vitamin A-Wirkung.

In bezug auf die Beziehungen zwischen Konstitution und Wirksamkeit kann also bis jetzt festgestellt werden, daß die entsprechende Säure sowie die Äther anscheinend praktisch die gleiche Aktivität wie der Alkohol besitzen. Auch der dem Vitamin A zugrunde liegende Kohlenwasserstoff — das Axerophten — ist biologisch wirksam. Ebenso sind einige Verbindungen, die sich durch den Mehr- oder Mindergehalt von Methylgruppen von den genannten Vitamin A-wirksamen Verbindungen unterscheiden — wenn auch wesentlich schwächer — biologisch aktiv, so das nor-Vitamin A, die Desmethyl-vitamin A-Säure und der homo-Vitamin A-Äther. Es hat sich also auch in diesem Fall wieder bestätigt, daß die biologische Wirksamkeit nicht streng an eine bestimmte Konstitution gebunden ist.

15. C_{15} bis C_{38}: Carotinoid-keton-oxalester-Verbindungen.

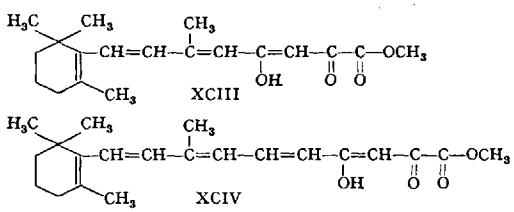
Die Übertragung der Kondensation von Oxalester mit Ketonen in die Carotinoid-Chemie führte zu einer Gruppe neuer Verbindungen, die in einer Arbeit von INHOFFEN, BOHLMANN und BARTRAM (*24*) beschrieben sind. Durch Variation der Versuchsbedingungen konnten sowohl Mono- als auch Bis-Kondensationsprodukte erhalten werden,

wobei die endständige Methylgruppe der Ketone in Reaktion trat. Die Mono-Kondensationen werden in Methanol mit Natrium-methylat bei —70° durchgeführt, während für die Bis-Kondensationen Natrium-äthylat in absolutem Äther am geeignetsten war.



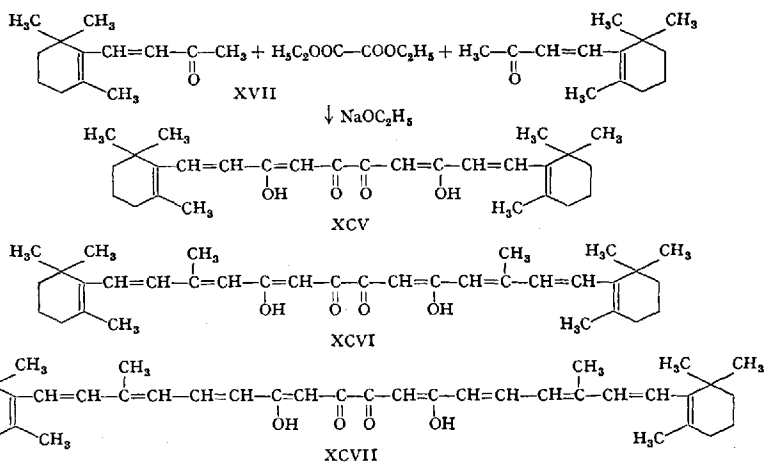
XVII XCII XCIIa

Die Mono-ionon-oxalester-Verbindung (XCII) bildet gelbe Krystalle vom Fp. 84°; das UV-Absorptionsmaximum liegt bei 360 mμ. Die analoge Verbindung aus C_{16}-Keton (XCIII) schmilzt bei 135° (UV-Maximum 380 mμ). Auch beim C_{18}-Keton (XLIV) konnte die Mono-Kondensation durchgeführt werden; der Ester (XCIV) bildet rote Krystalle, die bei 110—111° schmelzen; das Absorptionsmaximum liegt bei 411 mμ.



XCIII XCIV

Das Bis-Kondensationsprodukt, das aus β-Ionon erhalten wurde, ist das C_{28}-Tetra-Keton (XCV):



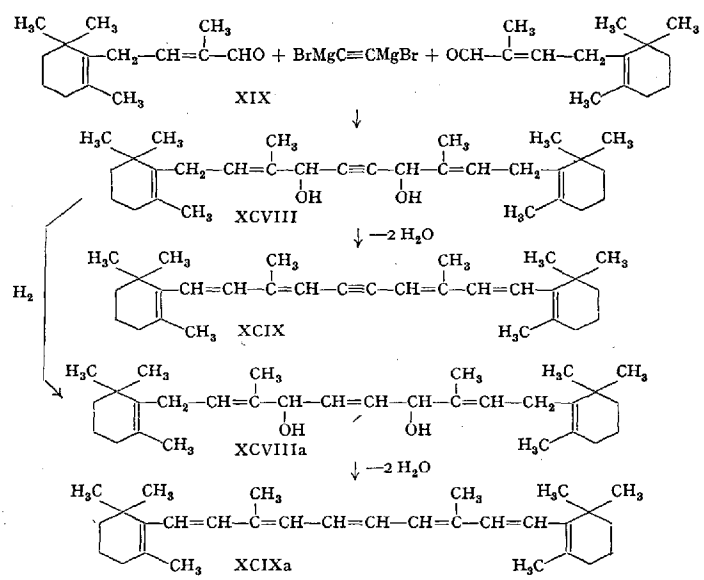
XVII XCV XCVI XCVII

die gelben Krystalle schmelzen bei 155° und zeigen ein Absorptionsmaximum bei 395 mμ. Das C_{16}-Keton liefert das C_{34}-Tetra-keton (XCVI); hellrote Krystalle vom Fp. 183—184° (UV-Maximum 420 mμ). Bei Übertragung dieser Reaktionsbedingungen auf das C_{18}-Keton konnte kein definiertes Produkt erhalten werden. Erst bei Anwendung von Natriumamid als Kondensationsmittel ließ sich das C_{33}-Tetraketon (XCVII) gewinnen. Es bildet dunkelrote Krystalle, die bei 194° schmelzen (UV-Maximum etwa 450 mμ). Diese Verbindung weist bereits die ganze Kohlenstoffkette des Carotins auf, es fehlen lediglich zwei seitenständige Methylgruppen.

Interessant sind bei diesen Verbindungen die Zusammenhänge zwischen Absorptionsverhältnissen, Konstitution und Farbigkeit. Die Mono-Kondensationsprodukte zeigen die zu erwartenden Absorptionsmaxima, wenn man berücksichtigt, daß sie als Enolformen vorliegen (vgl. XCII und XCIIa). In den Absorptionsspektren der Tetraketone kommt anscheinend nur die eine Hälfte mit den konjugierten Doppelbindungen sowie die 1,2-Diketon-Gruppierung zum Ausdruck.

16. C_{30}: C_{30}-Kohlenwasserstoff.

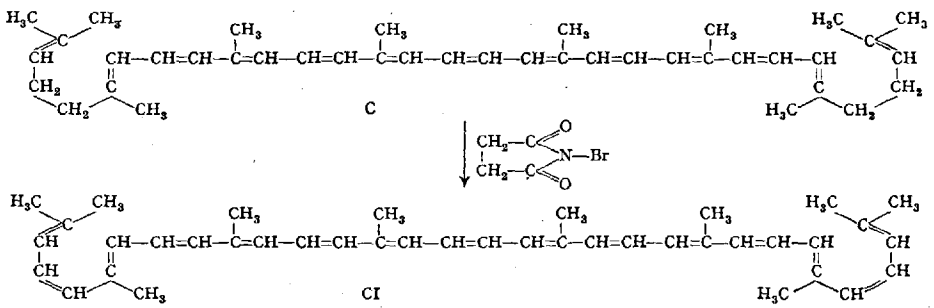
Die Synthese eines Kohlenwasserstoffes, der ebenfalls in seinem Aufbau Ähnlichkeit mit dem β-Carotin hat, wurde von INHOFFEN, POMMER und BOHLMANN (*25*) beschrieben. Die Kondensation von C_{14}-Aldehyd (XIX) mit Acetylen-dimagnesiumbromid führte zu dem symmetrischen Diol XCVIII.



Dieses Diol stellte ein Isomerengemisch dar, das weitgehend aufgetrennt werden konnte. Nach Wasserabspaltung mit Jod und Toluolsulfonsäure entstand der C_{80}-Kohlenwasserstoff XCIX mit einer 3fach-Bindung in der Mitte. Die gelben Krystalle schmelzen bei 102° und zeigen ein Absorptionsmaximum bei 360 mμ. Alle isomeren Diole lieferten den gleichen Kohlenwasserstoff. Weiterhin wurde das Diol XCVIII partiell hydriert (XCVIIIa) und hierauf durch Allyl-Umlagerung und Wasserabspaltung in den Kohlenwasserstoff XCIXa übergeführt; er bildet gelbe Nadeln, die bei 136° schmelzen und ein Absorptionsmaximum bei 370 mμ aufweisen. Dieser 7fach ungesättigte Kohlenwasserstoff baut sich also aus 6 Isopren-Resten auf und unterscheidet sich vom β-Carotin noch dadurch, daß zwischen den beiden Cyclocitralresten und der mittleren Kohlenstoffkette von 10 C-Atomen je 1 Isopren-Rest fehlt.

17. C_{40}: Dehydro-lycopin.

KARRER und RUTSCHMANN (*39*) ist es gelungen, ein Carotinoid mit 15 konjugierten Doppelbindungen darzustellen. Die Autoren haben Lycopin (C) mit Bromsuccinimid umgesetzt und dabei den Kohlenwasserstoff CI mit 15 konjugierten Doppelbindungen erhalten.



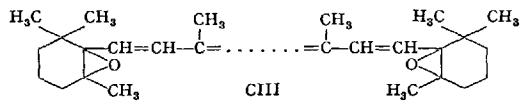
Das sich intermediär bildende Dibromid spaltet offenbar, bedingt durch das starke Konjugationsbestreben, sofort Bromwasserstoff ab und geht in den Kohlenwasserstoff über. Dieses Carotinoid bildet dunkelviolette Krystalle. Die Absorptionsmaxima in Schwefelkohlenstoff liegen bei 601, 557 und 520 mμ.

18. C_{40}: Carotinoid-epoxyde.

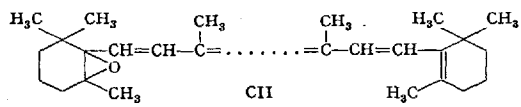
KARRER und JUCKER (*33*) haben festgestellt, daß sich Carotinoide durch vorsichtige Behandlung mit Phthalomonopersäure in definierte Epoxyde überführen lassen.

Es konnten sowohl Mono- (CII) als auch Di-epoxyde (CIII) dargestellt werden. Interessant ist, daß diese Oxyde bei Behandlung mit Spuren von Mineralsäuren in Verbindungen mit Furanringen (CIV)

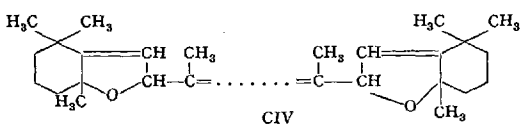
übergehen. Insgesamt sind auf diese Weise etwa 20 teils neue, teils bekannte, aber bisher konstitutionell unaufgeklärte Carotinoide partiell synthetisiert worden. Davon sind bereits 10 in der Natur aufgefunden.



CIII



CII

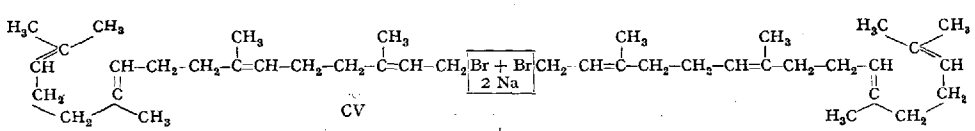


CIV

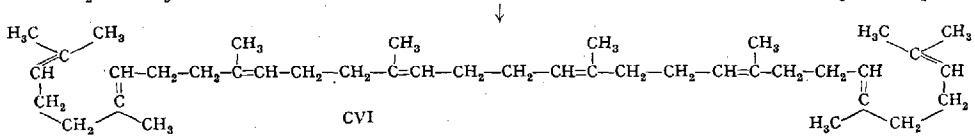
So ist z. B. das Citroxanthin oder Mutatochrom ein β-Carotin mit einem Furanring, während Aurochrom ein β-Carotin mit 2 Furanringen darstellt. Über eine eventuelle physiologische Bedeutung dieser neuen Verbindungsklasse ist noch nichts bekannt. KARRER nimmt an, daß sie möglicherweise beim Sauerstofftransport eine Rolle spielen, da diese Verbindungen anscheinend ihren Sauerstoff sehr leicht wieder abgeben. Jedenfalls konnte KARRER feststellen, daß einige dieser Epoxyde als Provitamine A fungieren, obwohl sie keinen unsubstituierten β-Iononring enthalten. Es wird daher angenommen, daß der Organismus befähigt ist, den Sauerstoff unter Rückbildung des β-Iononringes zu eliminieren.

19. C_{40}: Lycopersen.

KARRER und KRAMER (*43*) haben einen Kohlenwasserstoff mit 8 isolierten Doppelbindungen und dem Kohlenstoffgerüst des Lycopins dargestellt. Geranyl-geranylbromid wurde mit Natrium einer WURTZschen Reaktion unterzogen und auf diese Weise der C_{40}-Kohlenwasserstoff (CVI) gewonnen.



CV



CVI

Dieser Stoff stellt ein Öl dar und gibt ähnlich wie SQUALEN mit Salzsäure ein Additionsprodukt, und zwar ein Octa-hydrochlorid.

Literatur.

1. ARENS, J. F., u. D. A. VAN DORP: Synthese der Vitamin A-Säure. Recueil Trav. chim. Pays-Bas **65**, 338 (1946). — Nat. **157**, 190 (1946). Dtsch. Reichs-Pat. Anmeldungen der Schering A.G. vom Mai bis Juli 1944 von H. H. INHOFFEN, J. F. ARENS und D. A. VAN DORP, z. B. Anm. Sch. 129439 IVd/120.
2. — — Biological Activity of Vitamin A-Acid. Nature **158**, 60 (1946).
3. — — Some Observations on the Reactions of Bromo-acetone and Bromo-acetaldehyde and their Acetales with Metals. Recueil Trav. chim. Pays-Bas **65**, 729 (1946).
4. — — REFORMATZKI Reactions with γ-Methylbromothio-acetate. Recueil Trav. chim. Pays-Bas **66**, 407 (1947).
5. — — A Cis C_{18}-Ketone, Related to Vitamin A. Recueil Trav. chim. Pays-Bas **66**, 759 (1947).

5a. BÜCHI, G., K. SEITZ u. O. JEGER: Über die Dehydrierung von β- und α-Ionon. Helv. chim. Acta **32**, 39 (1949).

6. CYMERMAN, J., J. HEILBRON and E. JONES: Ethinyl-carbinols from α,β-unsaturated Ketones: Their Anionotropic Rearrangement and other Reactions. J. chem. Soc. (London) **1945**, 90.
7. — — — and R. LACEY: Condensation of the C_{14}-Aldehyde [3-(2',6',6'-Trimethyl-cyclohexen-1-yl-)methylcrotonaldehyde] with 1-Hexyne and 2-Methoxyhexen-3-yne-5. J. chem. Soc. (London) **1946**, 500.
8. DAVIES, H., J. HEILBRON, E. JONES and A. LOWE: Studien über die Synthese des Vitamins A. J. chem. Soc. (London) **1935**, 584.
9. VAN DORP, D. A., and J. F. ARENS: Synthesis of Vitamin A-Aldehyde. Nature **160**, 189 (1947).

9a. EULER, H. v., u. P. KARRER: Über die biologische Wirksamkeit des Axerophtens und verwandter Kohlenwasserstoffe. Helv. chim. Acta **32**, 461 (1949).

10. FINHOLD, A., A. BOND and H. SCHLESINGER: Lithium-aluminium-hydride, Aluminium-hydride and Lithium-gallium-hydride and some of their Applications in Organic and Inorganic Chemistry. J. Amer. chem. Soc. **69**, 1199 (1947). NYSTRÖM, R. F. and W. G. BROWN: Reduction of Organic Compounds by Lithium-aluminium-hydride. J. Amer. chem. Soc. **69**, 1197 (1947).
11. FISCHER, F. G., u. H. SCHULZE: Synthetische Carotinoid-ketone: Dimethyl-undecatetraenon und Trimethyl-pentadecahexaenon. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 1467 (1942).
12. GILMAN, H., and P. VAN ESS: Darstellung von Ketonen durch Carbonieren von organischen Lithiumverbindungen. J. Amer. chem. Soc. **55**, 1258 (1933).
13. GOULD, R., and A. F. THOMPSON: The Synthesis of Certain Unsaturated Compounds from β-Ionone and Tetrahydro-ionone. J. Amer. chem. Soc. **57**, 340 (1935).
14. HANZE, A., T. CONGER, E. WISE and D. WEISBLAT: Cristalline Vitamin A-Methyl-ether. J. Amer. chem. Soc. **68**, 1389 (1946).
15. HEILBRON, J.: Recent Developments in the Vitamin A-Field. J. chem. Soc. (London) **1948**, 386.
16. HEILBRON, J., HESTOP, MORTON, WEBSTER, REA and DRUMMOND: Charakterisierung hochwirksamer Vitamin A-Präparate. Biochem. J. **26**, 1178, 1194 (1932).
17. — E. JONES, A. LOWE and H. R. WRIGHT: Studium über die Synthese von Vitamin A. J. chem. Soc. (London) **1936**, 561.

18. HEILBRON, J., E. JONES u. Mitarb.: Synthesis in the Polyene Series: Anionotropic Rearrangements. J. chem. Soc. (London) **1943**, 264, 265, 268; **1944**, 134, 136, 140, 141, 144; **1945**, 27, 77, 90; **1946**, 500, 937.
19. — — J. McCOMBIE and B. WEEDON: The Semihydrogenation of Ethinylcarbinols derived from α,β-unsaturated Aldehydes and the Anionotropic Rearrangement of Resulting Vinylcarbinols. J. chem. Soc. (London) **1945**, 84.
20. — — and O'SULLIVAN: The C_{17}-Acid and C_{18}-Keton related to Vitamin A. J. chem. Soc. (London) **1946**, 866.
21. HEILBRON, J., A. W. JOHNSON, E. JONES and A. SPINKS: The Employment of 3-(2',6',6'-Trimethyl-cyclohexen-1-yl-)methylcrotonaldehyde for the Synthesis of Vitamin A and Analogues. J. chem. Soc. (London) **1942**, 727.
22. —, u. Mitarbeiter: Versuche zur Synthese von Vitamin A. J. chem. Soc. (London) **1942**, 733; **1943**, 261; **1944**, 134; **1945**, 77; **1946**, 27, 39.
23. HENBEST, J. B.: Synthese vom Dehydro-β-Ionon. Nature **161**, 481 (1948).
24. INHOFFEN, H. H., F. BOHLMANN u. K. BARTRAM: Synthesen in der Carotinoid-Reihe I.: Oxalesterkondensationen mit β-Ionon und homologen Ketonen. Liebigs Ann. Chem. **561**, 13 (1948).
25. — H. POMMER u. F. BOHLMANN: Synthesen in der Carotinoid-Reihe II.: Die Synthese des Kohlenwasserstoffes $C_{30}H_{42}$. Liebigs Ann. Chem. **561**, 26 (1948); sowie unveröffentlicht.
26. ISHIKAWA u. MATSUURA: Synthese von aldehydischen Isomeren des Methylionons. Sci. Rep. Tokyo Bunsika Daigaku A **3**, 173 (1937).
27. ISLER, O., W. HUBER, A. RONCO u. M. KOFLER: Synthese des Vitamin A-Methyläthers. EMIL-BARELL-Festschrift 1946, S. 31. — Experientia **2**, 31 (1946).
28. — — — — Synthese des Vitamin A. Helv. chim. Acta. **30**, 1911 (1947). — Nature **160**, 247 (1947).
28a. — A. RONCO, W. GUEX, N. C. HINDLEY, W. HUBER, K. DRABER u. M. KOFLER: Über die Ester und Äther des synthetischen Vitamins A. Helv. chim. Acta **32**, 489 (1949).
29. JONES, E., and McCOMBIE: Anionotrope Umlagerungen. J. chem. Soc. (London) **1943**, 261.
30. KARRER, P., u. J. BENZ: Eine neue Synthese des Desmethyl-axerophtens. Helv. chim. Acta **31**, 1607 (1948).
31. — — Anlagerung vom Acetylen an β-Ionon. Helv. chim. Acta **31**, 390 (1948).
32. — — Axerophten, der dem Vitamin A zugrunde liegende Kohlenwasserstoff. Helv. chim. Acta **31**, 1048 (1948).
32a. — — Zur Synthese des Axerophtens. II. Mitteilung. Helv. chim. Acta **32**, 232 (1949).
33. —, u. E. JUCKER: Carotinoid-epoxyde. Helv. chim. Acta **28**, 300, 427, 471, 474, 717, 1143, 1146, 1156 (1945); **30**, 531 (1947). — Carotinoide. Basel 1948.
34. — — u. E. SCHICK: Synthese der Vitamin A-Säure und der entsprechenden, den α-Ionon-Kohlenstoffring enthaltenden Verbindung (3,7-Dimethyl-9-[1',1',3'-trimethyl-cyclohexen-3'-yl-2']-nonatetraen-(2,4,6,8)-carbonsäure). Helv. chim. Acta **29**, 704 (1946).
34a. — K. P. KARANTH u. J. BENZ: Synthese des Iso-axerophtens. Helv. chim. Acta **32**, 435 (1949).
35. —, u. MORF: Konstitution von Vitamin A. Helv. chim. Acta **14**, 1036, 1431 (1931); **16**, 625 (1933).
35. —, u. P. OCHSNER: Dehydrierungen von β-(und α-)Ionon mittels Bromsuccinimid. Helv. chim. Acta **31**, 2093 (1948).

37. KARRER, P., u. A. RUEGGER: Zur Frage der Synthese von Vitamin A. Helv. chim. Acta **23**, 284 (1940).
38. — — Notiz über die Spaltung von β-Ionyliden-essigsäure in β-Ionon. Helv. chim. Acta **28**, 319 (1945).
39. —, u. J. RUTSCHMANN: Dehydro-lycopin, ein Carotinoidfarbstoff mit 15 konjugierten Doppelbindungen. Helv. chim. Acta **28**, 793 (1945).
40. —, u. E. SCHICK: Kristallisierte α-Ionyliden-crotonsäure. Helv. chim. Acta **30**, 862 (1947).
41. —, u. R. SCHWYZER: Über einige in ε-Stellung substituierte Derivate der Sorbinsäure. Helv. chim. Acta **29**, 1191 (1946).
42. — — Überführung von Vitamin A in Anhydro vitamin A und ein Carotinoid, wahrscheinlich identisch mit β-Carotin. Helv. chim. Acta **31**, 1055 (1948).
43. —, u. H. KRAMER: Lycopersen. Helv. chim. Acta **27**, 1301 (1944).
44. KIPPING, F. u. F. WILD: Synthese von Vitamin A-Äther. Chemistry and Industry **58**, 802 (1939).
45. KRAUSE, M. V., u. Y. M. SLOBODIN: Über die Synthese des Vitamins A. J. Gen. Chem. USSR. **10**, 907 (1940). — C. **1940 II**, 2893.
46. KUHN, R., u. MORRIS: Synthese des Vitamins A. Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 853 (1937).
47. MILAS, N.: The Synthesis of Vitamin A and Related Products. Vitamines and Hormones, Bd. V, S. 1—38. 1947.
48. — J. W. LEE, E. SAKAL, H. C. WOHLERS, N. S. MCDONALD, F. X. GROSSI and H. F. WRIGTH: The Application of the DARZENS Reaction to β-Ionone. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1584 (1948).
49. — W. LEE, C. SCHUERCH, R. EDGERTON, J. PLATI, F. GROSSI, Z. WEISS and M. CAMPBELL: The Synthesis of 1-(2',6',6'-Trimethylcyclohexen-1'-yl-)-3,7-dimethyldeca-1,3,5,7-tetraenyl-10-ethyl-ether. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1591 (1948).
50. — N. S. MCDONALD and D. M. BLACK: The Synthesis of 1-(Cyclohexen-1'-yl)-3-methyl-3-epoxybutyne-1 and Related Products. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1829 (1948).
51. —, u. M. HARRINGTON: A New Synthesis of 1-(2',6',6'-Trimethylcyclohexen-1'-yl)-3-methylhexa-1,3,5-trien-7-one (C_{18}-Ketone). J. Amer. chem. Soc. **69**, 2247 (1947).
52. — E. SAKAL, J. PLATI, J. RIVERS, J. GLADDING, F. GROSSI, Z. WEISS, M. CAMPBELL and H. R. WRIGHT: The Synthesis of Biologically Active Vitamin A-Ethers. J. Amer. chem. Soc. **70**, 1597 (1948).
53. NAVES, Y. R.: Sur la constitution et sur la synthèse de L'irone. Helv. chim. Acta **30**, 2221 (1947).
54. —, u. P. ARDIZIO: Synthèse d'aldehydes tetramethyl-cyclohexényl-formique en vue de la préparation d'iso-irones. Helv. chim. Acta **31**, 2252 (1948).
55. — — Synthèse d'isomères d'irones. Helv. chim. Acta **31**, 2256 (1948).
56. OROSHNIK, W.: A Synthesis of Vitamin A Methyl-ether. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1627 (1945).
57. PAULING, L.: Fortschritte der Chemie Org. Naturstoffe **3**, 203 (1939).
58. ROBESON, C. and J. BAXTER: Neo-vitamin A. J. Amer. chem. Soc. **69**, 136 (1947); **64**, 2411 (1942).
59. RUZICKA, L., C. F. SEIDEL, H. SCHINZ u. M. PFEIFFER: Die Konstitution des Irons. Helv. chim. Acta **30**, 1807 (1947).
60. SCHINZ, H., L. RUZICKA, C. F. SEIDEL et. CH. TAVEL: Synthèse de la d,l-α-irone. Helv. chim. Acta **30**, 1810 (1947).

60a. SCHWARZKOPF, O., H. J. CAHNMANN, A. D. LEWIS, J. SWIDINSKY u. H. M. WÜEST: Zur Synthese des Vitamins A. 1. Mitteilung. Eine neue Methode zur direkten Darstellung von Vitamin A von hoher biologischer Wirksamkeit. Helv. chim. Acta **32**, 443 (1949).

61. SHANTZ, E.: Synthesis of Compounds Related to Vitamin A from Hydroxymethylene-β-ionone. J. Amer. chem. Soc. **68**, 2553 (1946); **65**, 901 (1943).

62. SOBOTKA, H.: E. BLOCH u. D. GLICK: Cleavage of Ethyl-ionylidene-acetate. J. Amer. chem. Soc. **65**, 1961 (1943).

63. YOUNG, W., L. J. ANDREWS and S. J. CRISTOL: The Synthesis and Absorption Spectra of the Ionyliden-acetones and Related Compounds. J. Amer. chem. Soc. **66**, 520 (1944).

64. ZIEGLER, K., A. SPATH, E. SCHAAF, W. SCHUMANN u. E. WINKELMANN: Halogenierung von ungesättigten Substanzen in Allylstellung. Liebigs Ann. Chem. **551**, 80 (1941).

65. ZECHMEISTER, L., A. L. LE ROSEN, W. A. SCHROEDER, A. POLGAR and L. PAULING: Spectral Characteristics and Configuration of Some Stereo-isomeric Carotinoids Including Pro-lycopene and Pro-β-carotene. J. Amer. chem. Soc. **65**, 1940 (1943).

(Abgeschlossen im April 1949.)

Prof. Dr. H. H. INHOFFEN, (20b) Braunschweig,
Organisch-Chemisches Institut der Technischen Hochschule.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 211—291 (1949).

Die Trennung und Bestimmung der natürlichen Aminosäuren.

Von

THEODOR WIELAND.

(Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg und Organisch-Chemisches Institut der Universität Mainz.)

Mit 10 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht.

Seite

Zur Nomenklatur der Aminosäuren 212

1. Einleitung 213

2. Veränderungen der Aminosäuren bei der Hydrolyse von Eiweiß 214

3. Quantitative Aminosäureanalyse 217

31. Analytische Grundreaktionen 217

311. Chemische Abbaureaktionen und Cu-Komplexbildung 217

Bestimmung des Gesamtstickstoffs 217

Bestimmung des Aminostickstoffs 218

Bestimmung des α-Aminostickstoffs 219

Kupfermethoden 219

Ninhydrinmethoden 220

Bestimmung der Carboxylgruppe 221

312. Colorimetrische Bestimmungs- und Nachweisreaktionen 222

Quantitative Reaktionen 222

Ninhydrinreaktion 222

Farbreaktion mit β-Naphthochinonsulfonat 224

Qualitative Farbreaktionen 224

313. Titrationsmethoden 225

32. Aufteilung der Aminosäuren in Gruppen 226

321. Gruppentrennung durch Fällung 227

Abtrennung der basischen Aminosäuren 227

Abtrennung der sauren Aminosäuren 228

Aussalzung 229

322. Gruppentrennung durch Ionophorese 229

323. Gruppentrennung durch Adsorption 232

Abtrennung der aromatischen Aminosäuren 232

Abtrennung der basischen Aminosäuren 233

Abtrennung der sauren Aminosäuren 235

Trennung eines Aminosäuregemisches in 4 Gruppen 236

Abtrennung der Gruppe: Glycin, Serin, Threonin, Cystein . . 237

Weitere Gruppenaufteilungen 237

324. Gruppentrennung durch fraktionierte Fällung und Extraktion . 239

Kupferkomplexe 239

Salze mit organischen Säuren 239

Seite
33. Abscheidung und Bestimmung der einzelnen Aminosäuren 240
331. Abscheidung und Bestimmung durch Fällung 241
Salze mit Metallen 241
Salze mit organischen Nitrosäuren 243
Salze mit Metallkomplexsäuren 244
Salze mit organischen Sulfosäuren 244
332. Löslichkeitsproduktmethode 245
333. Trennung durch Ionophorese 246
334. Chromatographische Methoden zur Feinaufteilung der Aminosäuregruppen 247
3341. Adsorptions- und Austauschchromatographie 247
Zerlegung des Basengemisches 247
Zerlegung des Gemisches der sauren Aminosäuren . 247
Zerlegung des Gemisches der neutralen Aminosäuren 248
3342. Verteilungschromatographie 250
3343. Papierchromatographie 253
335. Verschiedene Fraktioniermethoden 258
336. Verwendung von Isotopen 259
Isotopenverdünnungsmethode 259
Isotopderivatmethode 260
34. Spezielle Analysenmethoden ohne Isolierung 261
341. Colorimetrische Methoden 261
342. Analysen durch chemischen Abbau 267
343. Titrationsmethoden 269
35. Biologische Methoden 270
351. Biochemische Bestimmungsmethoden 270
352. Mikrobiologische Analysenmethoden 272
Literatur 276

Die folgenden Ausführungen bilden zum Teil eine Fortsetzung der deutschen Zusammenfassungen von WINTERSTEIN (*325*) und HINSBERG und LANG (*126*). Es sind darin an zahlreichen Stellen Tatsachen wiederholt, die von BLOCK und BOLLING (*42*), sowie von MARTIN und SYNGE (*173*) ausführlich besprochen und mit einer nahezu erschöpfenden Literaturzusammenstellung versehen sind. Im Gegensatz zu diesen Werken habe ich fast nur diejenigen Originalarbeiten zitiert, die prinzipiell eine Neuigkeit mitteilen und die Publikationen, die sich nur mit der Anwendung solcher Methoden befassen, zum Teil bewußt weggelassen. Ein vollständiges Literaturverzeichnis aller aminosäure-analytischen Arbeiten des überblickten Zeitraums (etwa ab 1939 bis Ende 1948) würde rund 1000 Zitate umfassen.

Zur Nomenklatur der Aminosäuren.

Im Sommer 1947 hat VICKERY im Namen des Editorial Board of The Journal of Biological Chemistry 8 Regeln zur Neuordnung der Nomenklatur der Aminosäuren vorgeschlagen, durch welche die Verwirrung ausgeschaltet wird, die durch Angabe der Reihenzugehörigkeit (l- oder d-) und des Drehungssinnes (+) und (—) auftreten kann,

wenn die Rotationsrichtung in verschiedenen Lösungsmitteln gemessen wird (*295*). Diese Vorschläge sind von allen Autoren und Zeitschriften der angelsächsischen Länder angenommen worden, wo die neue Nomenklatur heute allgemein im Gebrauch ist. Die Regeln lauten auszugsweise:

1. Die Reihenzugehörigkeit soll durch ein Präfix bezeichnet werden, das aber wegfallen kann, wenn aus dem Text hervorgeht, von welchem Stereoisomeren die Rede ist.

2. Die Unterscheidung der stereoisomeren α-Aminosäuren erfolgt durch Vorsetzen der kleingedruckten Anfangsbuchstaben L und D, die die Reihenzugehörigkeit des α-C-Atoms bezeichnen. (+) oder (—) ist unnötig.

3. Bei Aminosäuren, die sich in ihrer Konfiguration auch auf Kohlenhydrate zurückführen lassen (z. B. Threonin), bringt man durch die rechts unter das Präfix beschriebenen kleinen Buchstaben s oder g zum Ausdruck, ob man die Konfiguration vom Serin (s) oder Glycerinaldehyd (g) ableitet. Das natürliche Threonin ist dann L_s-Threonin oder D_g-Threonin. Meist wird jedoch L-Threonin genügen.

4. Ist die Reihenzugehörigkeit des α-C-Atoms nicht bekannt, so gibt man die Drehungsrichtung in einem bestimmten Lösungsmittel, vorzugsweise der freien Aminosäure in Wasser, durch die kursiv geschriebenen Präfixe *dextro* oder *laevo* oder durch ein Plus- oder Minuszeichen in Klammern an.

5. Das Präfix *meso-* oder *ms-* (kursiv gedruckt) bezeichnet Isomere von Aminosäuren und Derivaten, die durch innere Kompensation optisch inaktiv sind.

6. Bei Aminosäuren mit zwei Asymmetriezentren wird die Form mit L-Konfiguration am α-C-Atom als L-Form bezeichnet, diejenige mit spiegelbildlicher Konfiguration an beiden Zentren als D-Form. Die Diastereomeren dieser Substanzen bezeichnet man mit den Präfixen L-Allo und D-Allo (z. B. L-Allothreonin).

7. Die Präfixe werden in allen Derivaten vor den Namen der Aminosäure gesetzt (z. B. Acetyl-L-tryptophan, 4-Oxy-L-prolin, Glycyl-DL-leucin, jedoch nicht Phenyl-L-alanin, sondern nach wie vor L-Phenylalanin).

8. Bei Trivialnamen von Verbindungen aus zwei verschiedenen Aminosäuren wird die Konfiguration des α-C-Atoms der kürzeren Aminosäure zur Bezeichnung benützt (z. B. D-Cystathionin für S-D-β-Amino-β-carboxy-äthyl-L-homocystein).

Ich werde mich im folgenden an diese Regeln halten.

1. Einleitung.

Der Analytiker im Revier der Aminosäuren, die nur in seltenen Fällen als Einzelindividuen in der Natur vorkommen, sieht sich zumeist der Aufgabe gegenüber, vor der Anwendung gewisser spezifischer Farb-, Fällungs-, Titrations- oder sonstiger Erfassungsreaktionen für die einzelnen Glieder eine *Gruppentrennung* vorzunehmen. Wenn auch für manche Aminosäuren mit auffallender Seitenkette seit langem ziemlich spezifische analytische Reaktionen bekannt sind, an deren Verfeinerung immer weiter gearbeitet wurde und wird, so weiß man doch mit Sicherheit, daß die meisten dieser chemischen Teste durch eine Vielzahl von Begleitstoffen gestört werden können. Deshalb ist in allen Fällen eine Gruppentrennung, die ja einer Anreicherung und Reinigung gleichkommt, mit Vorteil anzuwenden. Das gleiche gilt für denjenigen,

der einzelne Aminosäuren mit guter Ausbeute zu isolieren wünscht, also den präparativen Aminosäurechemiker. Auch für die moderne Isotopen-Verdünnungsmethode, bei der es gilt, Proben reinster Aminosäuren zur Analyse in die Hand zu bekommen, bleibt die vorherige Auftrennung des Gemisches in Gruppen ein Erfordernis, ebenso für die Löslichkeitsproduktmethode, und sicherlich wird man auch bei den zahlreichen chromatographischen Vorgängen, deren quantitative Gestaltung zur Zeit in vielen Laboratorien das Ziel der Forschung ist, auf die mit der Gruppentrennung einhergehende Anreicherung nicht verzichten können. Lediglich die mikrobiologischen Bestimmungen der Aminosäuren, die auf der quantitativen Messung des Wachstums von Mikroorganismen in Abhängigkeit von der Konzentration der zugesetzten Aminosäuren beruhen, scheinen von der Konzentration von Begleit-Aminosäuren wenig beeinflußt zu werden. Das scheint auch für die Methoden zu gelten, die sich spezifischer enzymatischer Reaktionen bedienen.

Das Hauptanwendungsgebiet der Aminosäurenanalyse ist die quantitative Ermittlung des Verhältnisses der Bausteine von Proteinen. Nur für wenige Aminosäuren kennen wir Methoden, die ihre Erfassung im Proteinverband mit einiger Sicherheit zulassen, so daß in der Mehrzahl der Fälle dem Analysengang eine hydrolytische Spaltung vorauszugehen hat.

2. Veränderungen der Aminosäuren bei der Hydrolyse von Eiweiß.

Leider ist die Hydrolyse mit vielen Faktoren verknüpft, die bei noch so exakter Ausführung der anschließenden Analyse die nachträgliche Rekonstruktion der Proteinmolekel unsicher machen. Beim Kochen mit starken Säuren oder Basen erleiden nämlich die Aminosäuren mehr oder weniger weitgehende Racemisierung und chemische Veränderungen, besonders in Anwesenheit von größeren Kohlenhydratmengen. Das geschieht in einem Maß, das sich auch durch modellmäßiges Miterhitzen der betreffenden Aminosäure mit dem Hydrolysat nicht mit Sicherheit bestimmen läßt, da die Bausteine im Peptidverband in höherer Reaktionsbereitschaft vorliegen. Dieser Tatsache muß man sich bei der Aufstellung einer Proteinbaustein-Summenformel aus analytischen Daten immer bewußt sein.

Die gebräuchlichen Methoden der Hydrolyse haben sich seit einem guten Jahrhundert prinzipiell nicht geändert. Neben der sauren Spaltung, die in der Hauptsache Anwendung findet, benützt man nach wie vor für Spezialzwecke (Erhaltung des Tryptophans und Tyrosins) Alkalien, seit neuerer Zeit allerdings in Einzelfällen auch proteolytische Enzyme. Diese, und zwar in einem dem Verdauungssystem der Säugetiere nachgebildeten Vorgang und Mischungsverhältnis, dürften das

hydrolytische Mittel der Zukunft sein, wenngleich man heute, hauptsächlich wegen der langdauernden Wirkung, nur dann zum Enzym greift, wenn es, wie bei der Freilegung des auch gegen Alkali nicht unempfindlichen Tryptophans, das kleinste Übel darstellt. Bisher sind uns weder racemisierende noch zersetzende Wirkungen von Proteasen oder Peptidasen auf Aminosäuren bekanntgeworden. Dazu im Gegensatz gibt es wohl keine Aminosäure, die nicht durch hohe H- oder OH-Ionenkonzentrationen in der Hitze mit der Zeit mehr oder weniger tiefgreifende Veränderungen erführe. Ohne im einzelnen auf das verstreute und noch nicht einheitlich aufgefaßte Material eingehen zu wollen, sei hier nur kurz die altbekannte Tatsache wiederholt, daß bei *saurer* Hydrolyse von Proteinen *Tryptophan* vollständig zerstört wird. Nach neueren Untersuchungen (*147*) ist diese Aminosäure in reiner Form beim Kochen mit hochprozentigen Säuren ziemlich stabil; erst die Anwesenheit von Carbonyl-Verbindungen (wahrscheinlich Aldehyden), wie sie bei der Proteinhydrolyse in Gegenwart von Kohlenhydraten auftreten, führt zum Verschwinden von Tryptophan unter Bildung von sog. Huminkörpern. Es handelt sich dabei wohl um ähnliche Reaktionen, wie sie als Farbreaktionen mit definierten Aldehyden an Indolkörpern häufig ausgeführt werden. Ähnlich ergeht es dem *Tyrosin*, das als Phenol mit Aldehyden ebenfalls große Reaktionsbereitschaft zeigt.

Eine eingehende Untersuchung der *Cystein*verluste bei saurer Hydrolyse (*111*) bestätigt Luggs Befunde, daß auch hierbei Kohlenhydrat im Spiel ist, da Humin, das ja seine Entstehung der Anwesenheit von Kohlenhydrat verdankt, mit Cystein reagiert (*165*). Durch Harnstoffzusatz bei der Hydrolyse kann die Huminbildung weitgehend vermieden werden, doch verschwinden dann immer noch 20% des Cysteins, ja selbst bei kohlenhydratfreier Hydrolyse (Lactoglobulin) wird derselbe Verlust, wahrscheinlich durch eine unbekannte niedermolekulare Substanz hervorgerufen, beobachtet.

Neben diesen hervorstechendsten Veränderungen erleiden auch die Hexonbasen, besonders *Arginin* und *Histidin*, beim Kochen in saurer Lösung mit Kohlenhydrat Veränderungen, die bis zu 20% Verlust führen (*274*). Auch vom *Serin* verliert man beim Kochen mit 6,8 n HCl in 30 Stunden mit oder ohne Kohlenhydrat etwa 10% (*46*).

Noch eingreifender sind die durch *Alkali* in der Hitze verursachten Zersetzungen. Hierbei sind es besonders die Oxyaminosäuren *Serin* und *Threonin* und wieder *Cystein-Cystin*, die der Zerstörung anheimfallen. Diese Aminosäuren sind in Peptidbindung besonders labil. Kocht man z. B. Seide in Stickstoffatmosphäre 1 Stunde mit 0,1 n-Natronlauge, so findet man nach anschließender Hydrolyse mit Salzsäure, daß der Gehalt an Threonin um etwa 50%, der an Serin um 30% abgenommen hat, wobei eine äquivalente Ammoniakmenge frei wird (*197*). Cystin

und Cystein werden beim 20stündigen Kochen mit 0,5 n-Lauge in Anwesenheit von Cadmiumionen (zum Abfangen des Sulfids) quantitativ hydrolysiert (*257*) unter Bildung von Brenztraubensäure, Sulfid und Ammoniak. Über den genaueren Mechanismus der alkalischen Cystinzersetzung (*161*).

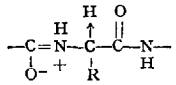
Es gibt also keine Hydrolysenart, bei der sämtliche Aminosäuren eines Proteins völlig erhalten bleiben. Am günstigsten liegen die Verhältnisse bei den kohlenhydratfreien oder -armen Proteinen, bei deren Hydrolyse keine Huminkörper auftreten. Bei Anwesenheit von Kohlenhydrat empfiehlt es sich, durch Anwendung eines großen Säureüberschusses (bis zur 100fachen Menge 7 n-HCl) die Konzentration der schädlichen Huminbildner und die der Aminosäuren niedrig zu halten und so die Geschwindigkeit der Nebenreaktionen zu verringern. Für einige Aminosäuren lassen sich Korrekturwerte zur Anwendung bringen, andere, die eine saure Hydrolyse nicht vertragen, wird man im gesonderten Ansatz alkalisch oder enzymatisch aus dem Proteinverband lösen (*128*). In jüngster Zeit wird auch wieder der Zusatz von Zinnchlorür zur Hydrolyse mit 20%iger HCl empfohlen, den schon HLASIWETZ und HABERMANN in Vorschlag gebracht haben (*143*), und zwar in einer Menge von 2 g auf 10 g Protein. Man erreicht dadurch ähnlich wie mit Titanosalz (*249*) eine bedeutende Herabsetzung der Hydrolysezeit auf 3 Stunden. Das Zinn wird dann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff in der Hitze als körniges Sulfid gefällt.

Für die schwefelhaltigen Aminosäuren schließlich bewährt sich die von BAERNSTEIN eingeführte Hydrolyse mit 57%iger Jodwasserstoffsäure (*19*), wobei Methionin quantitativ zum flüchtigen Jodmethyl desmethyliert und ins Thiolacton des Homocysteins verwandelt wird und Cystein zum allergrößten Teil erhalten bleibt.

Die von STEINHARDT (*246*) aufgefundene, bei kleiner H-Ionenkonzentration (0,05 bis 0,25 n-HCl) starke katalytische Wirkung von oberflächenaktiven Anionen (Dodecylsulfonat u. a.), die in 0,05 m-Konzentration die Proteolyse bei 65° ums Mehrhundertfache beschleunigen, ist zur analytischen Proteinspaltung noch nicht herangezogen worden, wohl weil die benötigte Hydrolysedauer dabei doch mehrere Tage beträgt und es nur zur Spaltung von etwa 50% der Peptidbindungen kommt (*225*). Zudem scheinen dabei die gegen Säure empfindlichen Aminosäuren ebenso betroffen zu werden wie bei kurzdauernder Hydrolyse mit starker Säure bei höherer Temperatur.

Ähnliches, wie das für die Zersetzung Gesagte, gilt auch für die *Racemisierung*, d. h. keine Aminosäure kann bei länger dauernder Einwirkung von H- oder OH-Ionen in der Hitze einer mehr oder weniger raschen Racemisierung entgehen, wobei alkalisches Milieu bedeutend wirksamer ist. Die zur Racemisierung führende Dissoziation eines

Protons vom asymmetrischen C-Atom ist eine vorwiegend alkalikatalysierbare Reaktion. Sie scheint noch leichter einzutreten, wenn das benachbarte Carboxyl nicht geladen, sondern substituiert ist (z. B. Peptidbindung) und die Aminogruppe durch Acylierung sich im „Lactam"-Zustand befindet, der mit einer polaren Resonanzform mesomer sein kann, wie etwa (*192*)



Jedenfalls erleiden Proteine schon beim Stehen mit 0,2 n-Lauge bei Zimmertemperatur in Stunden eine deutlich wahrnehmbare Racemisierung, wobei nicht alle Bausteine gleichmäßig betroffen werden (*156*).

Für chemische Bestimmungsmethoden spielt es keine Rolle, ob die Bausteine eines Proteins während der Hydrolyse racemisiert werden oder nicht, wohl aber für die mikrobiologischen und enzymatischen. Die Menge an L- und D-Formen aller Aminosäuren nach der Hydrolyse läßt sich exakt mit der Isotopen-Verdünnungsmethode durch Zusatz von markierter L- und D-Substanz feststellen (*107*).

3. Quantitative Aminosäure-Analyse.

In der folgenden Darstellung ist als Einteilungsprinzip das der *Auftrennung* in einzelne *Gruppen* gewählt. Danach folgen die Aufteilungsgänge oder Analysenmethoden einzelner Individuen in den weniger reichhaltig zusammengesetzten Gruppen. Dabei werden auch solche Methoden besprochen, die sich bisher nur an mehr oder weniger kompliziert zusammengesetzten Modellgemischen aus Aminosäuren bewährt haben, ohne ihre Brauchbarkeit in der viel unübersichtlicheren Praxis am Proteinhydrolysat bewiesen zu haben. Ihre Ausarbeitung für diese Bedürfnisse dürfte jedoch nur eine Frage der Zeit sein. Schließlich sollen diejenigen Methoden ihre Darstellung finden, bei denen auf die Isolierung der Proteinbausteine verzichtet wird, wie colorimetrische, titrimetrische, enzymatische und mikrobiologische.

31. Analytische Grundreaktionen.

311. Chemische Abbaureaktionen und Cu-Komplexbildung.

Bestimmung des Gesamtstickstoffs. Die Analyse des Gesamtstickstoffs organischer Verbindungen, die sich in wäßriger Lösung befinden, geschieht fast ausschließlich durch Bestimmung des nach KJELDAHL-Aufschluß gebildeten und alkalisch abdestillierten Ammoniaks. Als Aufschlußmischung bewährt sich z. B. ein Gemenge von 500 mg Kaliumsulfat, 50 mg Quecksilberoxyd und 1,5 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure, womit in 6 Stunden auch der Stickstoff des Lysins quantitativ in

Ammoniak übergeführt wird. Das Ammoniak wird in 2%ige Borsäure übergetrieben und mit n/100 HCl unter Benützung eines Indicators aus 10 Teilen 0,1%iger Bromkresolgrünlösung in Alkohol und 2 Teilen einer gleichen Methylrotlösung titriert (*182*). Das Quecksilberoxyd bildet bei diesem Aufschluß Mercuri-Ammoniumkomplexe, die gegen Oxydationsmittel beständiger sind als Ammonsalze. Wenig Selen und Kupfersulfat verkürzen die Aufschlußzeit des Caseins auf 30 Min. (*201*). Kurze Aufschlußzeiten werden auch mit Schwefelsäure und 30%igem H_2O_2, bei Bedarf in mehrmaliger Wiederholung angegeben (*181*). Man kann das Ammoniak auch colorimetrisch nach NESSLERs Reagens bestimmen, oder ohne Destillation durch Titration, wenn man es mit Hypobromit nach

$$3\ NaOBr + 2\ NH_3 \rightarrow N_2 + 3\ H_2O + 3\ NaBr$$

reagieren läßt und das unverbrauchte Oxydationsmittel jodometriert (*157*), (*208*). Der dabei entbundene Stickstoff kann auch manometrisch bestimmt werden (*284*).

Für γ-Mengen an NH_3 ersetzt man die Destillation durch *Mikrodiffusion* (*67*). Man verwendet neuerdings z. B. eine Zelle, in welcher zunächst der Aufschluß ausgeführt wird und in deren Gasraum sodann, nach Unterschichten der verdünnten Lösung mit Lauge, ein Löffelchen luftdicht eingebracht wird, das einen indicatorhaltigen Tropfen 0,025 n-Schwefelsäure enthält. In diesen Tropfen diffundiert im Laufe einiger Stunden das Ammoniak quantitativ ein. Die Rücktitration erfolgt mit Lauge aus einer Capillarbürette (*267*).

Die von BERTELOT 1859 entdeckte Blaureaktion von Ammoniak mit Hypochlorit und Phenolat (Indophenolbindung), die von THOMAS erstmalig quantitativ gestaltet wurde (*255*), läßt sich zur photometrischen Bestimmung von KJELDAHL-Ammoniak heranziehen (*44*), (*212*), (*285*). Dabei sind 0,5 γ Stickstoff in 1 cm^3 noch genau zu bestimmen. Zur Ermittlung des N-Gehaltes fester, definierter Substanzen ist selbstverständlich stets auch die Mikro-DUMAS-Methode anwendbar, die in vielen Fällen vor der KJELDAHL-Bestimmung den Vorzug verdient.

Bestimmung des Aminostickstoffs. Bei der gasometrischen oder manometrischen Bestimmung von Aminogruppen mit Nitrit in starker Essigsäure (VAN SLYKE) reagieren α-Aminogruppen rascher als die von der Carboxylgruppe weiter entfernten, so daß z. B. für die Desaminierung des Lysins 30 Min. Schütteldauer erforderlich sind. Dies gilt auch für ε-Aminogruppen im Proteinverband, wobei infolge des heterogenen Systems überhaupt längere Schüttelzeiten erforderlich sind. Aus der zeitlichen Verfolgung der mit Nitrit-Eisessig aus Proteinen abgespaltenen Stickstoffmenge kann man deshalb Schlüsse auf den Lysingehalt ziehen (*159*).

Mehr als 1 Mol Stickstoff je Mol geben Glycin, Cyst(e)in, Tryptophan und Arginin (*217*), ein Übelstand, dem man nach KENDRICK und HANKE (*139*) durch Zusatz von Kaliumjodid zum Reaktionsgemisch begegnen kann. Beträchtliche Stickstoffmengen, wohl durch Reduktion der salpetrigen Säure entstanden, wurden auch an N-freien Substanzen, besonders Phenolen, beobachtet (*55*). Dabei dürfte eine Photoreaktion im Spiel sein, da FRAENKEL-CONRAT bei Belichtung mit 100 W aus Tyrosin und Glycyl-L-tyrosin unter den Bedingungen der VAN SLYKE-Methode in 15 Min. 1,67 Mole N_2, aus p-Kresol 0,23 Mole N_2 beobachten konnte, ein Effekt, der im Dunkeln ausblieb (*97*).

Kleine Amino-N-Mengen (etwa 1 mg Aminosäure) lassen sich im WARBURG-Manometer (*301*) noch kleinere (20 γ) in einem volumetrischen Apparat mit Gascapillare bestimmen (*215*). Über die quantitative Ammoniakentbindung aus Aminosäuren mit Hypochlorit in siedender alkalischer Lösung siehe (*318*).

Bestimmung des α-Aminostickstoffs. *Kupfermethoden.* KOBER und SUGIURA schüttelten Aminosäuren in der Kälte mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd und bestimmten nach Aufkochen und Filtrieren die komplex in Lösung gegangene Kupfermenge, z. B. jodometrisch. Bei schwerlöslichen Kupferkomplexen wurde zur Lösung 10%iges Bicarbonat benutzt. Es zeigte sich, daß bei allen, außer Histidin, quantitativ je Mol Aminosäure 1/2 $Cu^{\cdot\cdot}$ in Lösung geht. Die Zusammensetzung des Histidin-Kupferkomplexes entspricht Hi_3-Cu_2. Peptide (Di-, Tri- und Tetrapeptide) bringen je Mol 1 Cu in Lösung, während primäre Amine nicht reagieren (*142*). Später ersetzten POPE und STEVENS, die bei der obigen Arbeitsweise erhebliche Cu-Mengen aus dem Hydroxyd im Filtrat fanden, das Hydroxyd durch das unlösliche Cu-Phosphat, das in schwach alkalischem Boratpuffer zur Anwendung gebracht wird und verwendeten diese Modifikation mit Erfolg bei der Verfolgung des Hydrolyseverlaufs einiger Proteine (*205*). Später wurde sie auf die Bestimmung des α-Aminostickstoffs im Harn angewandt (*4*).

Zur quantitativen Ermittlung kleinster Aminosäuremengen, die sich als Flecken auf Filtrierpapier befinden, ist ebenfalls dieses Prinzip anwendbar, wobei die aminosäurehaltigen Bezirke mit der Kupferphosphatsuspension geschüttelt und die in Lösung gegangenen Kupfermengen colorimetrisch mit Na-Diäthyl-dithiocarbamat (*326*) oder polarographisch nach Sulfitzusatz (*174*) bestimmt werden können. Diese Ultramikromethode, die zur Auswertung von Papierchromatogrammen (s. S. 257) geschaffen wurde, erlaubt z. B. über 90% Glycin wiederzufinden, obwohl das theoretische Verhältnis $—NH_2N$: 1/2 Cu = 0,44 bei keiner Aminosäure erreicht wird und von Aminosäure zu Aminosäure schwankt.

Eine einfachere Möglichkeit zur quantitativen Bestimmung kleinster Aminosäuremengen auf Filtrierpapier besteht in der *Retentionsanalyse*

[WIELAND (*316*)]. Dazu läßt man über den auf Filterpapier befindlichen Aminosäureflecken eine Lösung eines Cu-Salzes in einem geeigneten Lösungsmittel, das weder die Aminosäure noch deren Kupferkomplex merklich löst, aufsaugen. Die senkrecht zur Steigrichtung wandernde Front der Cu-Ionen wird an den Aminosäurestellen infolge Bildung der Cu-Komplexe zurückgehalten (retiniert), wodurch im Verlauf

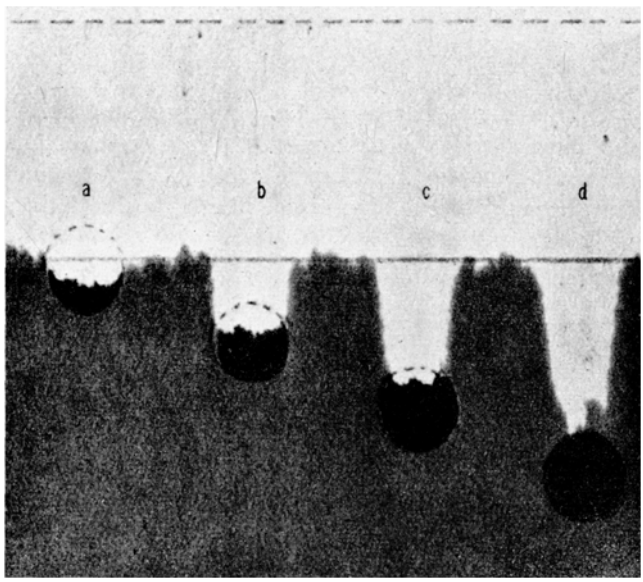
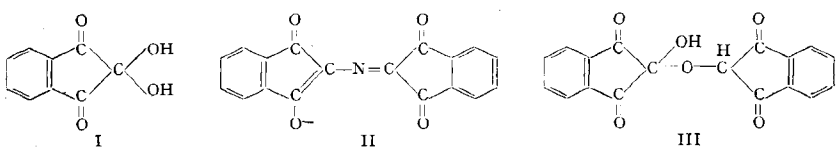


Abb. 1. Ausbildung von Retentionslücken. In a haben etwa $^1/_3$, in b $^2/_3$, in c $^7/_8$ und in d alle Aminosäuremolekeln des kreisförmigen Flecken reagiert.

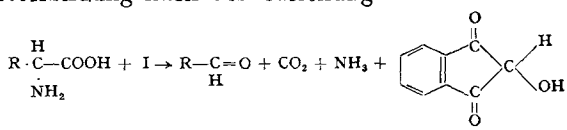
der Cu-Front Lücken entstehen, deren Größe exakt den Aminosäurekonzentrationen proportional sind. Der Verlauf läßt sich durch Besprühen mit Rubeanwasserstoff in Aceton nachträglich deutlich sichtbar machen (Abb. 1).

Bei dieser Art der Reaktion in schwach saurem Medium bindet auch Histidin, wie alle Aminosäuren, 1/2 Cu je Mol, ebenso reagieren Dipeptide, während Ammoniumionen nicht stören.

Ninhydrinmethoden. Die dehydrierende Wirkung von Triketohydrindenhydrat (I) auf die α-Aminogruppen von Aminosäuren in der



Hitze, die bei schwach saurem oder neutralem p_H unter Einbau des Stickstoffs zur Ausbildung des bekannten blauen Farbstoffs Diketohydrindyliden-diketohydrindamin (II) führt, verläuft unterhalb p_H 2,5 ohne Farbstoffbildung nach der Gleichung



d. h. es tritt die abgespaltene α-Aminogruppe quantitativ als Ammoniak auf. Nach Ausfällung des Ninhydrinüberschusses durch Reduktion mit Schwefelwasserstoff zum äußerst schwerlöslichen Hydrindantin (III) (*168*) oder nach seiner Zerstörung durch Wasserstoffsuperoxyd (*238*) und alkalischem Abblasen des Ammoniaks kann dieses nach einer der geschilderten Methoden (S. 218) quantitativ bestimmt werden. In praxi sind die NH_3-Ausbeuten nicht bei allen Aminosäuren quantitativ. So geben Cystein nur 73%, Tryptophan nur 56% NH_3. Mit dieser Methode bestimmt man vom Lysin nur die α-Aminogruppe.

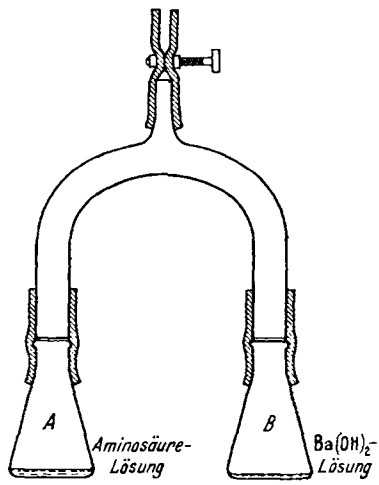


Abb. 2. Apparat zur Entwicklung und Destillation von Carboxyl-CO_2.

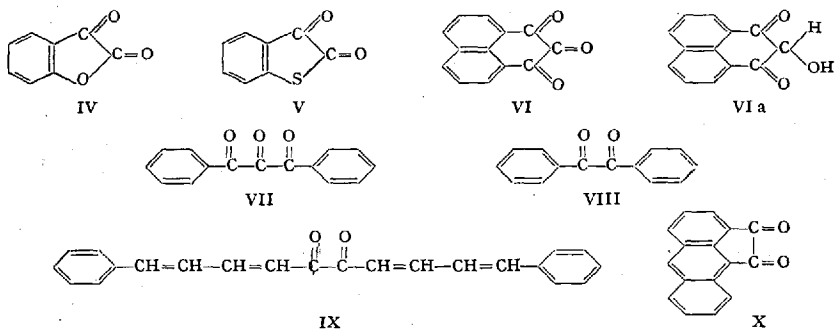
Bestimmung der Carboxylgruppe. Die beim Umsatz von Ninhydrin mit Aminosäuren, auch mit Prolin und Oxyprolin gebildete CO_2-Menge ist quantitativ und ein Maß für die Anzahl der α-Aminocarboxylgruppen. Alle Aminosäuren entwickeln je Mol 1 CO_2, bis auf Asparaginsäure, die, über Malonhalbaldehyd, 2 CO_2 gibt. Nach VAN SLYKE und zahlreichen Mitarbeitern läßt sich das beim Erhitzen der Komponenten bei mäßig saurem p_H entwickelte CO_2 manometrisch (*176*), (*286*), (*287*) oder titrimetrisch (*59*), (*288*) messen, wobei letzteres apparativ einfacher erscheint. Abb. 2 stellt eine Vorrichtung dar, die für diesen Zweck brauchbar ist.

Die Apparatur besteht aus zwei durch ein U-Rohr verbundenen 25 cm³-ERLENMEYER-Kölbchen. Ins Reaktionsgefäß *A* gibt man 2—5 cm³ der auf p_H 2,5 oder 4,7 mit Citrat gepufferten und mit einem Antischaummittel versehenen Analysenlösung und treibt durch Erhitzen das CO_2 aus. Dann wird Gefäß *B* mit CO_2-freier Luft durchspült und mit 1—3 cm³ 0,25 n- oder 0,125 n-Barytlösung, der zur Vervollständigung der Bariumcarbonatfällung 2% Bariumchlorid zugesetzt sind, beschickt. Man schließt nun die Verbindungen und evakuiert. Nach 10 Min. Verweilen im siedenden Wasserbad wird B in ein Gefäß mit kaltem Wasser gehängt, wobei durch 2 Min. langes Schütteln das CO_2 vollständig absorbiert wird. Nach

Abkühlen des ganzen Apparates füllt man ihn mit CO_2-freier Luft und titriert die Barytlösung mit n/50 HCl zurück.

Bei der titrimetrischen CO_2-Bestimmung entfällt eine Störung durch gleichzeitig gebildete flüchtige Aldehyde, die sich bei der manometrischen bemerkbar macht, aber durch Zusatz von 0,15 m Hydrazin zur Absorbierlauge (*221*) oder zur Milchsäure im Entwicklungskolben (*113*) ausschalten läßt. Nach VAN SLYKE läßt sich auch das von DAKIN eingeführte Chloramin T zur quantitativen CO_2-Entbindung aus α-Aminosäuren bei etwa 50° verwenden (*287*). Dabei bleibt aber die Genauigkeit hinter der der Ninhydrinmethode zurück.

Nach SCHÖNBERG und Mitarbeitern (*220*) reagieren, ähnlich wie Ninhydrin, eine Reihe weiterer Keto-Verbindungen mit Aminosäuren unter CO_2-Abspaltung zu den C-ärmeren Aldehyden. Zum Beispiel neben den bekannten Glyoxal, Methylglyoxal, Diacetyl, Alloxan, Isatin und Ascorbinsäure, das Cumarandion (IV), Thiocumarandion (V), Perinaphthindantrion (VI), Diphenyltriketon (VII), Benzil (VIII) und Di(ω-phenylbutadienyl)-diketon (IX). Auch einige Chinone (z. B. Aceanthrachinon) (X) reagieren, während andere (Benzochinon, Anthrachinon, 2-Methyl-1,4-naphthochinon) aus Aminosäuren kein CO_2 abspalten.



Genauer untersucht wurde Verbindung (VI), die bei p_H 2 aus Aminosäuren, Ammoniak, CO_2 und Aldehyd bildet und gegenüber dem Ninhydrin den Vorteil hat, daß ihr gebildetes Hydrierungsprodukt (VIa) aus der Reaktionslösung ausfällt und mit Bromwasser wieder leicht zum Dehydrierungsmittel zurückoxydiert werden kann (*187*).

312. Colorimetrische Bestimmungs- und Nachweisreaktionen.

Quantitative Reaktionen. *Ninhydrinreaktion.* Zahlreiche Versuche, diese empfindlichste Farbreaktion quantitativ zu gestalten, sind bis vor kurzem deshalb fehlgeschlagen, weil eine zur Farbstoffbildung notwendige Komponente durch den Luftsauerstoff teilweise wegoxydiert wird. Nach TETZNER (*254*) läßt sich nämlich durch Zusatz von wenig Ascorbinsäure die Empfindlichkeit der Reaktion um das 10fache

steigern. Aber erst MOORE und STEIN (*186*) haben den Sachverhalt erkannt und dieselbe Empfindlichkeitssteigerung unter anaeroben Bedingungen nachgewiesen. In Verfolgung dieser Beobachtungen wurde von denselben Autoren gezeigt, daß der Zusatz von Zinn-II-Chlorid, das im Gegensatz zu Ascorbinsäure mit Aminosäuren keine Färbung gibt, geeignet ist, unter Standardbedingungen mit gleichmolaren Mengen fast aller Aminosäuren die gleiche intensive Blaufärbung zu liefern, die im Spektrophotometer bei 570 mμ colorimetriert wird.

Für die Bereitung der Reagenslösung wird folgendes Rezept angegeben: 0,8 g $SnCl_2 \cdot 2\,H_2O$ werden in 500 cm³ 0,2 m Citratpuffer (p_H 5) gelöst und mit einer Lösung von 20 g umkrystallisiertem Ninhydrin in 500 cm³ Glykolmonomethyläther vermischt. Die Lösung kann unter Stickstoff mindestens 1 Monat aufbewahrt werden. 0,1 cm³ einer Lösung, enthaltend 1—10 γ Aminosäure in wassergesättigtem Butanol oder anderen Alkoholen, werden mit 1—2 cm³ des Reagens 20 Min. im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach Abkühlung muß je nach Intensität der Farbe mit Wasser-n-Propanol (1 : 1) verdünnt werden. Prolin und Oxyprolin geben bekanntlich (*108*) eine rotgelbe Farbe. Diese hat geringere Intensität und wird vorteilhaft bei 440 μ gemessen. Mit dem in der Reagenslösung enthaltenen Hydrindantin (III) reagiert auch das Ammoniumion unter Bildung des blauen Farbstoffs.

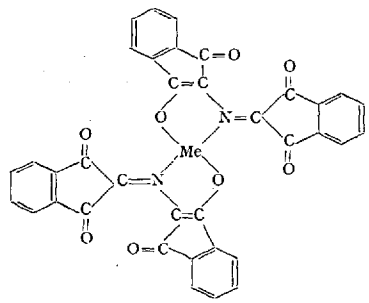
In Tabelle 1 sind die Farbstärken von Aminosäuren und anderen Verbindungen auf molarer Basis im Vergleich zu Leucin angegeben:

Tabelle 1.

Verbindung	Farbstärke	Verbindung	Farbstärke
Alanin	1,01	Asparagin	0,94
Arginin	1,00	Glutamin	0,99
Asparaginsäure	0,98	Glutathion	0,76
Citrullin	1,03	Glycinäthylester	1,00
Glutaminsäure	1,05	Glycyltyrosin	0,88
Glycin	1,01	Glycylphenylalanin	1,04
Histidin	1,04	Glycylglycin	0,89
Isoleucin	1,00	Glycylleucin	1,05
Leucin	1,00	Leucylglycin	0,92
Lysin	1,12	Phenylalanylglycin	0,97
Methionin	1,00	Histamin	0,65
Phenylalanin	0,88	Taurin	0,97
Serin	0,94	Tyramin	0,64
Threonin	0,92	Glucosamin	1,00
Tyrosin	0,88	Kreatin	0,03
Valin	1,02	Diketopiperazin	0,01
Cystein	0,15	Adenin	0,03
Cystin/2	0,54	Harnstoff	0,03
Tryptophan	0,72	p-Aminobenzoesäure	0,00
Prolin	0,05	Glucose	0,00
Oxyprolin	0,03	Harnsäure	0,00
NH_4^+	0,98		

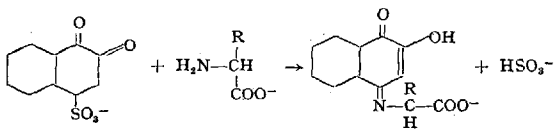
Durch Zusatz der verschiedensten Metallionen wird die Ninhydrinreaktion in ihrer Empfindlichkeit sehr abgeschwächt. Es entstehen dabei Farbtöne, die von dem der schwermetallfreien Reaktion ganz verschieden sind. So entsteht

bei Cu-Zusatz eine rubinrote, bei Cd-Zusatz eine ziegelrote Färbung. Es handelt sich hier um die Bildung wahrscheinlich innerkomplexer Salze des Kondensationsprodukts II, von dem einige in metallisch glänzenden Blättchen isoliert wurden (TH. WIELAND, unveröffentlicht) (XI).



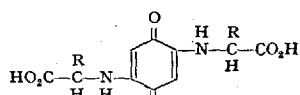
XI

Farbreaktion mit β-Naphthochinonsulfonat. Diese von FOLIN 1922 aufgefundene Reaktion, die wahrscheinlich in der Bildung von Kondensationsprodukten unter Eliminierung der —SO_3H-Gruppe aus dem Chinonsulfonat besteht,



läßt sich nach Ansäuern und Bleichen des überschüssigen Chinonreagens (z. B. mit Formaldehyd und Thiosulfat) quantitativ colorimetrisch auswerten. In neuerer Zeit ist die Färbung, die aus den verschiedenen Aminosäuren entsteht, photoelektrisch verglichen worden, wobei sich zeigte, daß der Verlauf der Absorptionskurven im wesentlichen gleich ist. Bei 490 oder 520 mμ ergeben alle Aminosäuren, außer Prolin und Oxyprolin, die schwächere Farben liefern, etwa die ihren freien α-Aminogruppen entsprechenden Extinktionswerte, so daß eine ziemlich genaue quantitative Aminosäurebestimmung kleinster Mengen (4—40 γ Stickstoff) möglich ist (*98*). Die Spezifität der Reaktion ist allerdings nicht so groß wie die mit Ninhydrin, indem z. B. auch aromatische Amine kräftige Färbung verursachen.

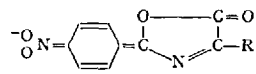
Qualitative Farbreaktionen. *Chinone.* Mit Benzochinon bilden Aminosäuren stark gefärbte Verbindungen, die wahrscheinlich als Additionsprodukte der Konstitution XII zu formulieren sind (*88*). Verdünnte Chinonlösung läßt sich z. B. zur Sichtbarmachung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen verwenden. Zur quantitativen Colorimetrie benützt man Chinonderivate, wie z. B. das obengenannte 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat.



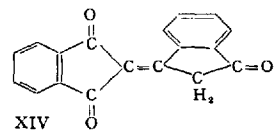
XII

p-Nitrobenzoylchlorid (WASER-EDLBACHER). Gibt man zu einer mit Pyridin überschichteten alkalischen Aminosäurelösung einige Tropfen einer Lösung von p-Nitrobenzoylchlorid in Benzol, so entsteht beim Umschütteln eine intensive blaue Farbe (*82*), (*83*). Nach KARRER und KELLER (*138*) kommt den gefärbten Produkten die Strukturformel von nitronsauren Salzen der Oxazolonderivate (XIII) zu.

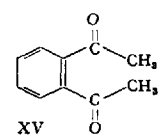
Diese Farbreaktion ist auch zur Feststellung von Aminosäureflecken auf Papier geeignet (*203*).

XIII 

Bindon (WANAG). Anhydro-bis-indandion (XIV), das mit aromatischen Aminen beim Kochen in Eisessig eine blaue Verbindung gibt (LIEBERMANN 1897), reagiert unter denselben Bedingungen auch mit Aminosäuren. Primäre Aminosäuren geben in Verdünnung von etwa 50 γ/cm³ eine rotviolette, sekundäre wie Prolin eine Blaufärbung (*300*).


XIV

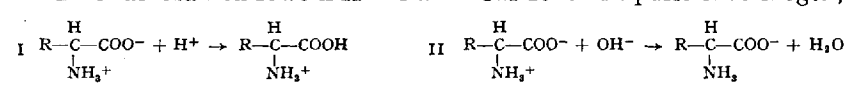
o-Diacetylbenzol (WINKLER). 1,2-Diacetylbenzol (XV), das auf der Haut sehr beständige blaue Flecken erzeugt, gibt mit Aminosäuren, Peptiden und Proteinen tiefblaue Farbstoffe. Glycin läßt sich z. B. in einer Verdünnung von 1:50000 noch gut nachweisen. Im Gegensatz zur Ninhydrinreaktion scheinen die aus verschiedenen Aminosäuren gebildeten, säurebeständigen, aber alkaliempfindlichen Farbstoffe verschiedene Zusammensetzung zu haben (*324*).


XV

Schließlich sei noch der alten *Phenolat-Hypochloritreaktion* gedacht, deren Anwendung zur colorimetrischen Bestimmung des Ammoniaks S. 218 erwähnt wurde. THOMAS (a. a. O.) beschrieb, daß auch Glycin und andere Aminosäuren unter Blaufärbung reagieren; wahrscheinlich ist es das bei der alkalischen Hypochloriteinwirkung aus α-Aminosäuren entstehende Ammoniak, das in sekundärer Reaktion zur Farbbildung führt. Versuche, diese Reaktion quantitativ zu gestalten, sind meines Wissens nicht beschrieben worden.

313. Titrationsmethoden.

Da Aminosäuren sowohl H- als auch OH-Ionen zu puffern vermögen,


I II

kann man sie mit Basen und Säuren schon in wäßrigem Medium titrieren. Weil dabei aber die Umschlagspunkte für die Feststellung mit Indicatoren bei zu extremen p_H-Werten liegen, setzt man bekanntlich organische Lösungsmittel (Alkohol, Aceton, Eisessig) oder Formaldehyd

zu, bei deren Anwesenheit eine p_H-Verschiebung des Titrationsendpunktes eintritt. Einige dieser Methoden haben in den letzten Jahren Verfeinerungen oder Modifikationen erfahren oder sind auf den Ultramikromaßstab umgestellt worden.

So läßt sich die *Formoltitration* der Monoaminomonocarbonsäuren mit Lauge unter Verwendung der Glaselektrode potentiometrisch verfolgen, was als eine der genauesten Titrationsmethoden gilt (*80*). In 0,25 cm^3 Flüssigkeit lassen sich Aminosäuren in Anwesenheit von Formalin unter elektrometrischer Feststellung der Umschlagsacidität (p_H 8) aus einer Mikrobürette titrieren (*45*). Ebenso gut scheint sich diese Submikrotitration auch mit Phenolphthalein als Indicator ausführen zu lassen (*235*).

Die LINDERSTRÖM-LANGsche Titration von Aminosäuren in *Aceton* mit alkoholischer Salzsäure und Naphthylrot als Indicator läßt sich im Mikromaßstab photoelektrisch verfolgen. Dabei macht man von dem Absorptionsmaximum der freien Indicatorsäure (540—550 mμ) Gebrauch, das beim Umschlagspunkt (p_H 3,7 in wäßriger Lösung) auftaucht und den Durchgang eines gefilterten Lichtstrahls und somit den in einer Photozelle entstehenden Strom plötzlich schwächt (*328*).

Die von HARRIS aufgefundene Möglichkeit, Aminosäuren mit *Perchlorsäure in Eisessig* mit Brillantkresylblau oder Krystallviolett als Indicator zu titrieren, ist später durch Zusatz von wenig Ameisensäure zur Erleichterung der Auflösung schwerlöslicher Aminosäuren verbessert worden (*262*).

Die Anlagerung eines Protons an eine Aminosäuremolekel läßt sich nach TH. WIELAND (unveröffentlicht) auch *retentionsanalytisch* (s. S. 220) zur quantitativen Bestimmung kleinster Mengen auswerten, wenn man als „Titrier"flüssigkeit z. B. verdünnte acetonische Schwefelsäure im Papier aufsteigen läßt, das die Aminosäureflecken trägt, und anschließend die Größe der Retentionslücken durch Besprühen mit einem geeigneten p_H-Indicator sichtbar macht. Im Gegensatz zur Titration in Lösung hat der Indicator dabei nicht die Aufgabe, das Umschlags-p_H sichtbar zu machen, das deshalb bei noch so extremen Werten liegen darf.

32. Aufteilung der Aminosäuren in Gruppen.

Zur Gruppentrennung eines Aminosäuregemisches gibt es mehrere Methoden. Vielfach wird zwar auch noch heute das älteste Verfahren, bei dem man eine Fraktionierung durch Fällungsmittel erreicht, angewendet, doch scheinen sich in den letzten Jahren mehr und mehr die modernen chromatographischen oder ionophoretischen Methoden das Feld zu erobern. Außer ihnen kennt man noch solche, die in einer fraktionierten Auflösung bestimmter Fällungen bestehen.

321. Gruppentrennung durch Fällung.

Abtrennung der basischen Aminosäuren. Hierzu hat sich über 5 Jahrzehnte die Phosphowolframsäure als bestes Mittel bewährt. Die Niederschläge, die auch Cystin enthalten, lassen sich durch Ausschütteln

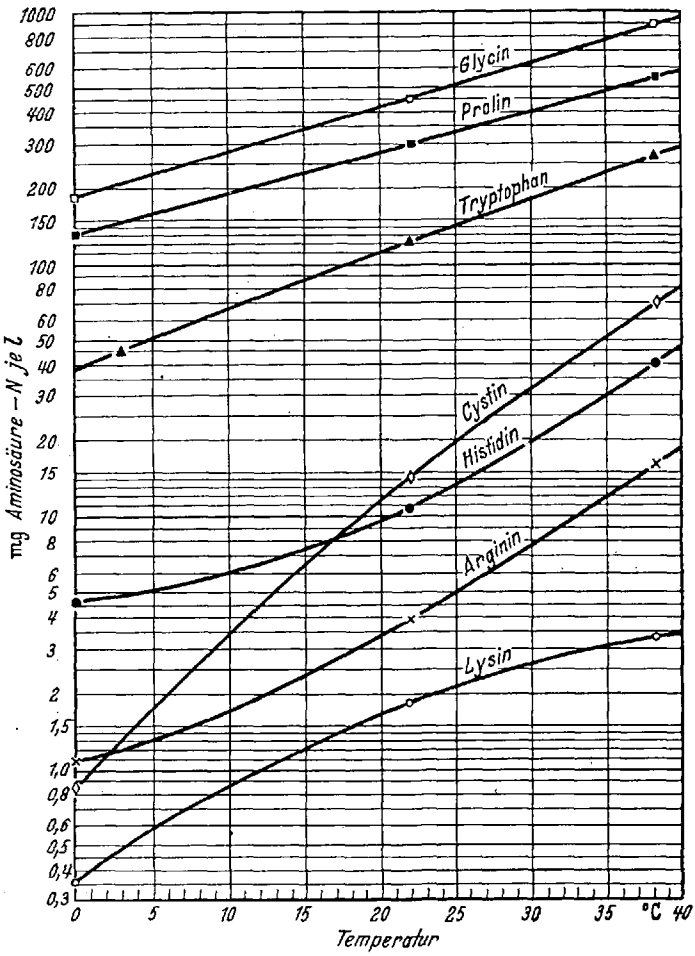


Abb. 3. Temperaturabhängigkeiten der Löslichkeit von Aminosäure-phosphorwolframaten in 0,25 n-HC.

der sauren Lösung mit Alkohol-Äther von der Heteropolysäure befreien und auf diese Weise bequem zerlegen. Genauer untersucht wurde die Löslichkeit und Fällungsdauer der Aminosäuren mit Phosphowolframsäure von VAN SLYKE und Mitarbeitern (*290*). Aus der zitierten Arbeit stammt das obenstehend abgebildete Diagramm, das die Abhängigkeit der Löslichkeit der Phosphorwolframate einiger Aminosäuren in 0,25 n-Salzsäure von der Temperatur darstellt.

Histidin bildet mit Arginin und Lysin gemischte Phosphowolframate, so daß es bei einem Überschuß dieser Basen durch die Heteropolysäure vollständiger gefällt wird als der Löslichkeit seines Salzes entspricht. Der umgekehrte Effekt, nämlich eine Erhöhung der Löslichkeit der Phosphowolframate von Lysin und Arginin durch überschüssiges Histidin tritt nicht ein.

Eine weitere genaue Untersuchung der Abscheidbarkeit der Basen mit Phosphorwolframsäure kommt aus der englischen Schule CHIBNALLs (*58*). Sie ergab, daß aus einem Hydrolysat die Basen in Anwesenheit der anderen Bausteine nicht komplett gefällt werden, sondern daß nach Entfernen der Dicarbonsäuren, des Cysteins und des Hauptteils der Monoaminomonocarbonsäuren nach bereits vollzogener Fällung mit diesem Fällungsmittel ein weiterer, etwa 6% des Stickstoffs vom ersten enthaltender Niederschlag sich abscheidet. Außer den verbreiteten Basen fallen mit Phosphorwolframsäure auch Citrullin, Ornithin und Oxylysin (*226*).

Abtrennung der sauren Aminosäuren. Hier ist das Standardmittel Calciumhydroxyd oder Bariumhydroxyd in Alkohol, da die Erdalkalisalze der Aminodicarbonsäuren in hochprozentigem Alkohol sehr schwer löslich sind. Während nach ursprünglicher Verwendung von Calciumhydroxyd durch FOREMAN (*93*) später dem Barium der Vorzug gegeben wurde (*70*), (*134*), kommen englische Autoren in letzter Zeit wegen der höheren Spezifität wieder auf das Calciumhydroxyd als Fällungsmittel zurück. Sie konstatieren weiterhin, daß auch die Calciumfällung in Anwesenheit anderer Aminosäuren unvollständig ist, so daß mehrmalige Fällung nach Entfernung der basischen und eines möglichst großen Teiles der neutralen Aminosäuren empfohlen wird (*20*). Aber selbst dann scheint die Fällungsmethode den Vergleich mit den modernen, später zu schildernden, nicht ganz aushalten zu können.

Bei der genauen Bearbeitung der sauren Fraktionen verschiedener Proteinhydrolysate ergaben sich Gründe zur Vermutung, daß die *Oxyglutaminsäure* früherer Autoren eine komplexe Mischung von Asparaginsäure und anderen Aminosäuren mit Dismutationsprodukten des Cystins gewesen sein muß. TOWN (*271*) hat z. B. aus der alkoholischen Ba-Dicarboxylatfällung des Gliadinhydrolysats Tyrosin und Serin isoliert. Bei Behandlung mit Dimethylsulfat in alkalischer Lösung gibt die umstrittene Verbindung wohl etwas Betain, wie das von α-Amino-β-oxysäuren zu erwarten ist, doch nimmt selbst ihr Entdecker DAKIN neuerdings von der Richtigkeit der von ihm aufgestellten Formel Abstand (*71*). Wahrscheinlich stammt das von ihm beobachtete Betain aus einer Serinbeimengung. Zur Frage der Oxyglutaminsäure vgl. auch S. 268.

Als *Na-Salze* wurden aus dem alkoholischen Extrakt von Choleravibrionen von MACHEBOEUF und BLASS 2 saure Aminosäuren isoliert, denen vielleicht die Struktur der *α-Amino-adipinsäure* und *α-Amino-γ-oxyadipinsäure* zukommt (*35*).

Aussalzung. Durch Zusatz von Elektrolyten wird die Löslichkeit der Aminosäuren in Wasser erniedrigt, so daß solche Aminosäuren, die in Wasser ohnehin schwer löslich sind, wie z. B. Leucin, durch Kochsalzzusatz weitgehend ausgefällt werden können (*22*). Auf Proteinhydrolysate angewandt, erhält man mit dieser Methode Fällungen, die aus Tyrosin, Phenylalanin, Methionin und Leucin bestehen (*21*), (*125*).

322. Gruppentrennung durch Ionophorese.

Die verschiedenartige Ladung der basischen, neutralen und sauren Aminosäuren kann man zu einer Gruppentrennung ausnützen, wenn man in einem geeigneten Apparat eine Lösung des Gemisches der Einwirkung eines elektrischen Feldes aussetzt. Nach einem Vorschlag von MARTIN und SYNGE (*173*) sollen Vorgänge, bei denen relativ kleine Partikel in einem elektrischen Feld wandern, mit *Ionophoresen* bezeichnet werden. *Elektrophorese* bedeutet den Transport hochmolekularer Substanzen und *Elektrodialyse* den von kleinen geladenen Partikeln aus einem Gemisch mit großen.

Die Ionophorese eines Aminosäuregemisches wird nach dem Vorbild von IKEDA und SUZUKI, die 1909 ein Patent auf die präparative Abscheidung von Glutaminsäure nach dieser Methode nahmen (*133*), unter Verwendung von Diaphragmen durchgeführt, die eine gleichzeitige oder nachträgliche Durchmischung der getrennten Anteile durch Diffusion oder Konvektion verhindern. Als Membran diente dabei gelatineimprägniertes Tuch, das nachträglich mit Formalin gehärtet war. Unter Verwendung einer ähnlichen 3-Zellen-Anordnung, aber mit Kohleelektroden, trennten FOSTER und SCHMIDT die basischen Aminosäuren bei einer Spannung von 110 V (1,5 A) von den neutralen und sauren ab (*94*). Wurde dabei das p_H des Mittelraumes auf 5,5 gehalten, so erfolgte Wanderung aller drei Basen in den Kathodenraum, bei 7,5 blieb Histidin isoelektrisch ungeladen im Mittelraum zurück. Da sich während des Stromdurchgangs das p_H der Mittelzelle weit nach dem sauren zu verschieben drohte, wurde von Zeit zu Zeit Barytwasser zugegeben, extreme Alkalität des Kathodenraumes wurde durch Einperlen von CO_2 vermieden. Eine Arbeitsweise ohne p_H-Regulierung wurde später für kleinere Substanzmengen von ALBANESE angewendet (*2*). Sehr gut bewährt sich ein 3-Zellen-Apparat nach PAULI, wie er in Abb. 4 dargestellt ist (*202*). In diesem Apparat kann die nötige Kühlung von außen (Einlegen in ein Eisbad) oder von innen (Einführung von

wassergespeisten Kühlröhren) besorgt werden. Der Inhalt der Mittelzelle wird zweckmäßigerweise gerührt.

Neben der elektrischen Wanderung der erwünschten Aminosäureionen gelangen bei all diesen Arbeitsweisen durch Diffusion, Kataphorese und die eben genannten p_H-Verschiebungen, die sich auch durch Verwendung von Pufferlösungen nicht ganz vermeiden lassen, auch neutrale Aminosäuren in die Elektrodenräume, so daß man nur durch Wiederholung der Operation eine saubere Trennung erreichen kann. Die weitere Bearbeitung des Themas durch zahlreiche Autoren führte zur Einführung anderer Membranen oder von Kombinationen (Pergament, Chromgelatine, Glasfritten u. a.) und anderen Elektroden, zur

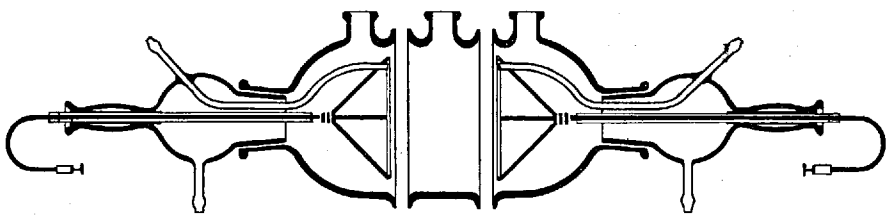


Abb. 4. Ionophoreseapparat nach W. PAULI.

Konstruktion von Mehrzellenapparaten und zu Anordnungen, bei denen elektro-osmotisch bedingte Volumverschiebungen zwischen den Zellen durch Ausübung eines entsprechenden entgegengesetzten Gasdrucks vermieden werden.

SPERBER (*240*) puffert den Mittelraum durch Zugabe des Anionenaustauschers Amberlite IR 4, wodurch sich dort ein p_H von höchstens 4,5 einstellen kann. Dabei wandern nur die Basen zur Kathode; der Anodenraum wird durch verdünnte Schwefelsäure so sauer gehalten, daß auch die sauren Aminosäuren als Kationen nicht einwandern können und am Kunstharz adsorbiert werden. Die neutralen bleiben im Mittelraum in Lösung. In jüngster Zeit wurde ein Semimikroapparat beschrieben (*283*), dessen Mittelzelle zwei hohle Halbkugelschliffe trägt, mit denen sie unter Einlage der Membrane mit den entsprechenden Kugelschliffen der Elektrodenzellen verbunden und verklammert wird. Diese besitzen einen angeschmolzenen Kühlwassermantel. Das Volumen der Mittelzelle beträgt etwa 20 cm^3.

Gelingt es, die Diffusion und Konvektion bei der Ionophorese zu vermeiden, so kommt man ohne Membranen aus. So beschrieben BUTLER und STEPHEN eine Apparatur mit Asbestfasern als stabilisierendes Agens (*51a*). Eine Anordnung, welche dieselbe Stabilisierung durch Einbetten des Elektrolyten in ein Gel aus Kieselsäure erreicht, haben CONSDEN, GORDON und MARTIN angegeben (*64*). Sie bringen

das zu trennende Gemisch in Kieselgel eingetränkt als Streifen quer zur Stromrichtung in die Mitte eines breiten Streifens aus demselben Material, der mit dem geeigneten Puffer imprägniert ist. Beim Anlegen der Gleichspannung von 70—190 V an die an den zwei Enden befindliche, von Pufferlösung umspülte Messingkathode und Kohlenanode findet in dem wassergekühlten Apparat bei neutralem p_H in 4 Stunden eine quantitative Trennung in saure, neutrale und basische (Arginin + Lysin) Aminosäuren statt.

Die Feststellung der Lage der Banden erfolgte durch Abdrücken des Gels auf Filterpapier und anschließender Erwärmung des Papiers

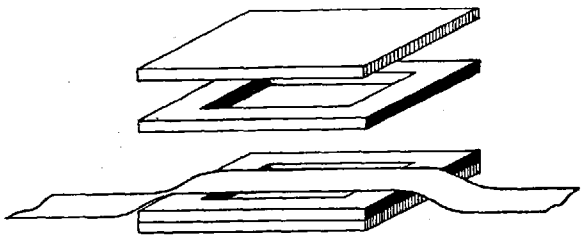


Abb. 5. Kammer zur Papier-Ionophorese.

nach Besprühen mit butanolischer Ninhydrinlösung. Diese Sichtbarmachung ergab, daß im Versuch die Basen als 1,8 cm breite Zone 7,8 cm zur Kathode, die neutralen (2,7 cm breit) durch Kataphorese 4 cm zur Kathode und die Säuren (3,5 cm breit) 3 cm zur Anode gewandert waren. Da man in dieser Anordnung nicht nur den Ladungsunterschied, sondern auch die verschiedenen Ionenbeweglichkeiten der Aminosäurenanionen (oder -kationen) zu einer Trennung ausnützen kann, ergibt sich hier eine Möglichkeit zur Unterteilung der Gruppen, wovon später (S. 246) die Rede sein wird.

Unabhängig von den englischen Forschern haben TH. WIELAND und FISCHER (*314*) gezeigt, daß eine ionophoretische Gruppentrennung auch auf Filtrierpapierstreifen bequem durchzuführen ist. Der einfache Apparat besteht aus einer aus Glasplatten und Kunststoffrahmen gebildeten, mit Klammern verschließbaren Kammer (s. Abb. 5).

In diese wird ein mit dem geeigneten Acetatpuffer getränkter Filtrierpapierstreifen eingelegt, auf dessen Mitte man nahe dem unteren Rand einen Mikrotropfen des Aminosäuregemisches aufgebracht hat. Die Enden des Streifens werden dann in zwei Petrischalen gehängt, die mit demselben Puffer gefüllt sind und in die je ein mit Gips unten verschlossenes Glasrohr eintaucht, das Pufferlösung und die Zink- oder Kohleelektroden enthält. Nach Anlegen einer Gleichspannung von 110 V wandern bei p_H 5,5 die drei Basen in 2 Stunden etwa 2 cm zur Kathode, die Säuren ebenso weit zur Anode, während die Neutralen etwa die Mitte behalten. Die quantitative Auswertung kann bei Verwendung eines m/20 Acetatpuffers retentiometrisch quer zur Stromrichtung erfolgen (s. S. 220), nachdem der Streifen an der Luft gut getrocknet ist (*316*).

Durch Aufbringung des Aminosäuregemisches als Tropfenreihe quer zum Streifen gelingt es, auch Mengen zu trennen, die sich nach Elution aus dem Papier analytisch weiterbearbeiten lassen.

Eine mit Ionophorese gekoppelte Papierchromatographie beschrieb HAUGAARD (*115*).

323. Gruppentrennung durch Adsorption.

Das Prinzip der Adsorption, d. h. die durch eine Konstante regulierte Einstellung eines Gleichgewichtes einer Substanz zwischen Lösungsmittel und der Oberfläche einer festen, nicht oder begrenzt löslichen Phase erlaubt bekanntlich eine Stofftrennung. Erst die mehrmalige Wiederholung dieses Vorganges führt jedoch zu befriedigenden Trennungserfolgen. In der TSWETTschen Adsorptionsanordnung, bei der die Lösung durch eine Schicht des Adsorptionsmittels durchfiltriert wird, findet der Vorgang, gewissermaßen im Gegenstrom, so oft statt, daß Substanzen mit nur geringfügig verschiedenen Adsorptionskonstanten mit verschiedener Geschwindigkeit durch die Säule wandern und in getrennten Volumina des Durchlaufs austreten. Man hat diese Technik „Chromatographie" genannt. In der analytischen Chemie der Aminosäuren hat sie erst ziemlich spät Eingang gefunden, doch verfügen wir heute über Adsorptionsmittel und Methoden, die eine einwandfreie Auftrennung von komplizierten Aminosäuregemischen in Gruppen zulassen. Siehe dazu die Zusammenfassungen (*10*), (*51*), (*261*), (*280*), (*310*). Von diesen Gruppentrennungen soll hier vorerst die Rede sein, während die chromatographische Unterteilung von Gemischen der Aminosäuren oder ihren Derivaten in die einzelnen Komponenten in einem späteren Kapitel (334) abgehandelt wird. Das vor allem in die Augen fallende Einteilungsprinzip der Aminosäuren nach ihrer Nettoladung, wonach man basische, neutrale und saure unterscheidet, und das auch bei den in den vorigen Kapiteln geschilderten Fällungsreaktionen und Ionophoresen obwaltete, findet hier eine Erweiterung. Die einen Benzolkern enthaltenden „aromatischen" Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan (Oxytryptophan, Kynurenin) bilden eine weitere Untergruppe.

Abtrennung der aromatischen Aminosäuren. Beim Studium des Adsorptionsverhaltens von Aminosäuren an Kohle wurde von TISELIUS (*258*) beobachtet, daß Phenylalanin und Tryptophan in wäßriger Lösung etwa 10mal langsamer durch eine Säule von cyanidvergifteter Aktivkohle wandern als die anderen Aminosäuren. Unter Ausnützung derselben Beobachtung trennten WACHTEL und CASSIDY (*299*) Glycin-Leucin von Phenylalanin-Tyrosin und an einer zweiten Säule von Kohle Glycin vom Leucin, das stärker adsorbiert wird. SCHRAMM und PRIMOSIGH (*222*) benützten dasselbe Prinzip als eine der fünf Teilungsstufen eines Aminosäuregemisches. Sie ließen dazu das Gemisch in

5%iger Essigsäure durch eine Säule aus granulierter, gesiebter Aktivkohle (Schering) laufen, die vorher mit Essigsäure ausgekocht und dann mit Cyanid vergiftet worden war, um schwermetallkatalysierte Oxydationen der Aminosäuren an der Kohle zu vermeiden. An 2 g Kohle blieben dabei sicher 10 mg aromatische Aminosäuren hängen, wenn man mit 50 cm^3 Flüssigkeit wusch, wodurch die anderen quantitativ ins Filtrat getrieben wurden. Zur Elution diente 20%ige Essigsäure mit 5% Phenolzusatz, auch Pyridin-Eisessig ist dazu brauchbar (*277*). Später hat auch TISELIUS selbst auf seine Idee zurückgegriffen bei der exakten Ausarbeitung einer Technik zur Aufteilung eines Aminosäuregemisches in 4 Gruppen (s. S. 236) (*260*).

Abtrennung der basischen Aminosäuren. Da die basischen Aminosäuren in wäßriger neutraler Lösung als Kationen vorliegen, kann man sie durch Adsorption an Kationenaustauschern selektiv aus einem Gemisch abtrennen. Dabei stellt sich zwischen dem Adsorptionsmittel, das Kationen (H^+ oder Me^+) in ionisierbarer Form zur Verfügung hat und den Kationen der Lösung ein Gleichgewicht ein:

$$Aust^- H^+ + Kat^+ \rightleftharpoons Aust^- Kat^+ + H^+$$
$$\text{oder } Aust^- Me^+ + Kat^+ \rightleftharpoons Aust^- Kat^+ + Me^+.$$

Dieses Gleichgewicht wird stets, auch wenn sich keine schwerlöslichen Salze des zu adsorbierenden Kations mit dem Anion des Adsorptionsmittels bilden, bei dem großen molaren Überschuß an Adsorbens auf der rechten Seite begünstigt sein. Zusätzlich wird die Konzentration von $Aust^- Kat^+$ und somit die je Gramm adsorbierte Ionenmenge dadurch erhöht, daß man die gleichzeitig in Lösung gehenden Ionen (H^+ oder Me^+) rasch aus dem Gleichgewicht entfernt. Deshalb ist es bedeutend wirksamer, die Filtrationstechnik mit einer Säule des Adsorptionsmaterials anzuwenden, als den Austauscher bloß einzurühren. Das schwach basische Histidin läuft beim Neutralpunkt, wo es zur Hauptmenge ungeladen vorliegt, durch die meisten Austauscher hindurch.

Nach einigen weniger systematischen Versuchen von anderen Stellen gelang es TURBA (*275*) durch Filtration der Lösung durch die säureaktivierte *Bleicherde* Filtrol-Neutrol[1] die drei Basen quantitativ zu adsorbieren und von den anderen Aminosäuren abzutrennen. Die unvorbehandelten Naturerden XXF oder XS (*224*), die wegen ihrer groben Konsistenz größere Filtriergeschwindigkeiten erlaubt, halten, besonders in Gegenwart eines Puffers von p_H 8 nur Arginin und Lysin zurück. Anwendung dieser Methode zur Analyse verschiedener Nahrungsproteine (*75*).

Als Reinigungs- oder Anreicherungsoperation, z. B. vor colorimetrischen Aminosäurebestimmungen, findet heute die Filtration durch Permutite verschiedentlich erfolgreich Anwendung, etwa bei der colorimetrischen Argininbestimmung, die

[1] Eine Zusammenstellung der in der chromatographischen Aminosäureanalyse verwendbaren Adsorptionsmittel mit ihrer Zusammensetzung und ihren Eigenschaften findet sich am Ende des Abschnittes (S. 238).

genauere Werte liefert, wenn man die Basen zuerst an Permutit adsorbiert und dann mit Kochsalzlösung eluiert (*51*), oder bei der KAPELLER-ADLERschen Reaktion auf Phenylalanin, vor der das störende Histidin durch dieselbe Operation entfernt wird (*5*). Weiterhin wird z. B. argininfreies Glutamin durch Filtration durch eine kochsalzvorbehandelte Decalsosäule erhalten (*15*). Ähnlich erfolgt die Abtrennung des Arginins vom Glykocyamin (*234*). Selbstverständlich lassen sich zu solchen Zwecken auch die anderen im folgenden beschriebenen spezifischen Adsorptionsmittel verwenden.

Von geringerer Kapazität sind die ebenfalls auf anorganischer Grundlage beruhenden Adsorptionsmittel: *„Basisches" Aluminiumoxyd,* das nur Arginin und Lysin festhält (*307*), (*308*) (1 g Adsorbens hält nur etwa 0,5 mg fest) und Silicagel (*223*). In Anbetracht des schwachen Adsorptionsvermögens stören hierbei anorganische Kationen, dafür gelingt die Elution der Basen schon mit ganz schwachen Säuren und kleinem Volumen.

Als sehr brauchbare Hilfsmittel zur Abtrennung der basischen Aminosäuren haben sich die synthetischen polaren *Austauscherharze* erwiesen, die eine 10—100fache Kapazität aufweisen. Nachdem FREUDENBERG und Mitarbeiter (*99*) die Adsorbierbarkeit aller Aminosäuren an stark saure Kunstharze (z. B. Wofatit K, KS) festgestellt hatten, von denen sich nur die neutralen und sauren mit Pyridinwasser eluieren lassen, verwendete TH. WIELAND das carboxylhaltige schwächere Wofatit C, um spezifisch die drei basischen Aminosäuren zu adsorbieren (*313*). Die Abtrennung wird schärfer, wenn man in 20%iger Essigsäure (*260*) oder in n/1000 HCl (208a) arbeitet. Die Elution gelingt mit verdünnten Mineralsäuren. Nach SCHRAMM und PRIMOSIGH (*224*) werden daran auch die aromatischen Aminosäuren adsorptiv zum Teil festgehalten, so daß deren Abtrennung an Kohle vorauszugehen hat. Überführung in den K-Permutit durch Vorbehandlung mit verdünnter Kalilauge läßt nur noch die stark basischen Arginin und Lysin unter Ionenaustausch haften, während Histidin ins Filtrat geht [vgl. dagegen (*224*)]. Eine ähnliche Abschwächung durch Neutralisation mit verdünnter Lauge erfahren die sulfosäurehaltigen Harze Wofatit K, KS und P, wonach sie nur noch die drei Basen festzuhalten vermögen (*281*). Allerdings gelangen dabei anorganische Ionen ins Filtrat, die mitunter für die Weiterbehandlung störend sein können.

Auch BLOCK in Amerika (*40*) adsorbierte die basischen Aminosäuren erfolgreich an das saure Kunstharz Amberlite IR 1 oder 100 und eluierte mit 7%iger Salzsäure. Später hat der gleiche Autor eine Reihe weiterer Kunstharze, auch carboxylhaltige, zum selben Zweck herangezogen (*41*). CLEAVER und Kollegen (*60*) untersuchten das Austauschvermögen des mit Salzsäure, Ammoniumhydroxyd, Natronlauge und Sodalösung vorbehandelten Amberlites IR 100 und kommen zu Ergebnissen, die im wesentlichen mit denen der oben zitierten

Autoren übereinstimmen. Der NH_4-haltige Austauscher, der aus neutraler Lösung nur Arginin und Lysin, nicht aber Histidin adsorbiert, ist wegen der leichten Entfernbarkeit des ausgetauschten Ions zu empfehlen.

Abtrennung der sauren Aminosäuren. Für die sauren Aminosäuren, die in neutraler wäßriger Lösung als Anionen vorliegen, verwendet man Anionenaustauscher.

$$\text{Aust}^+\,\text{OH}^- + \text{Ac}^- \rightleftharpoons \text{Aust}^+\,\text{Ac}^- + \text{OH}^-$$
$$\text{oder } \text{Aust}^+\,\text{A}^- + \text{Ac}^- \rightleftharpoons \text{Aust}^+\,\text{Ac}^- + \text{A}^-$$

Da solche Austauscher in der Natur nicht vorkommen, dauerte es verhältnismäßig lange, bis der erste anorganische Anionenpermutit in Gebrauch kam. Es waren SCHWAB und DATTLER (*227*), die zeigten, daß das gewöhnliche Aluminiumoxyd beim Behandeln mit Mineralsäuren unter Umladung des amphoteren Metalloxydes deren Anionen bindet. Diese können nun gegen andere Anionen ausgetauscht werden, besonders gut bei Verwendung der säulenförmigen Anordnung. Die erstmalige Anwendung dieses Prinzipes auf organische Säuren stammt von H. WIELAND und PISTOR (*305*), die das Anthrachinonsulfonat eines Calebassen-Curarins an der „sauren" Säule zerlegten, an welcher das Sulfonat gegen Chlorid ausgetauscht wurde. Dann wurde das gleiche Oxyd von KUHN und TH. WIELAND (*149*) zur Anreicherung von Pantothensäure aus Thunfischleberkonzentration benützt.

Das mit verdünnter *Salzsäure vorbehandelte* anionotrope *Aluminiumoxyd* eignet sich, wie TH. WIELAND zeigte, sehr gut zur Abtrennung der sauren Aminosäuren aus Aminosäuregemischen (*307*). Außer ihnen wird auch Cystin gebunden, dessen spezifische Elution mit H_2S-gesättigtem Wasser gelingt. Beim Arbeiten in saurem p_H (Essigsäure-Acetat — Puffer p_H 3,3) an der mit demselben Puffer vorbehandelten Aluminiumoxydsäule passiert das Cystin das Adsorbens (*276*). Man eluiert quantitativ mit verdünntem Alkali. Die spezifische Abtrennung der Dicarbonsäuren mit der sauren Aluminiumoxydsäule diente z. B. zur Gewinnung von reinstem Glutaminsäurehydrochlorid aus dem Hydrolysat von Tumorproteinen (*309*), (*312*). Auch SCHRAMM empfiehlt sie zur Isolierung der sauren Aminosäuregruppe (*223*), neuerdings auch DIEMAIR (*75*) zur Analyse der Aminodicarbonsäuren im Hydrolysat verschiedener Nahrungsproteine.

Mit gutem Erfolg lassen sich zum selben Zweck auch organische anionenaustauschende *Kunstharze* verwenden. Nach FREUDENBERG und Mitarbeitern (*99*) adsorbiert das Aminharz Wofatit M die Anionen der Dicarbonsäuren unter Austausch von OH-Ionen nach Vorbehandlung mit anorganischen Basen. In Amerika verwendete CANNAN (*51*) Cl^--Ionen-austauschfähiges Amberlite IR 4, das ins Hydrolysat in Portionen eingerührt wurde, zur Isolierung von Glutaminsäure und Asparaginsäure mit besserer Ausbeute als nach der FOREMAN-Methode. Die Säuren wurden mit verdünnter Salzsäure aus dem Harz eluiert. Auch CLEAVER und Mitarbeiter (*60*) untersuchten dieses Harz und berichten

von einer sehr großen Kapazität für saure Aminosäuren. In Anwesenheit anorganischer Anionen sinkt sie allerdings erheblich ab. Neuerdings wurde dasselbe Harz auch von TISELIUS und Mitarbeitern bei seiner 4-Stufen-Trennung, über die im folgenden berichtet wird, mit Erfolg verwendet.

Trennung eines Aminosäuregemisches in 4 Gruppen in einem Arbeitsgang.

Unter Verwendung eines Vorschlages von SCHRAMM (*223*), aber unter Benützung anderer Adsorbentien ist von TISELIUS und Mitarbeitern (*260*)

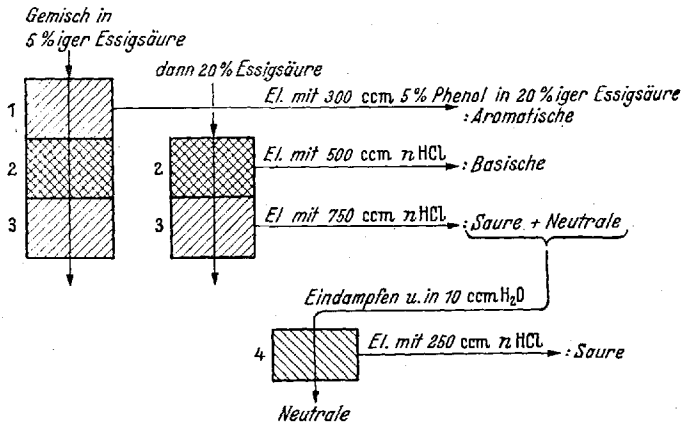


Abb. 6. Schema zur Trennung eines Aminosäuregemisches in 4 Gruppen nach TISELIUS, DRAKE und HAGDAHL.

eine Apparatur konstruiert worden, mit welcher in einem Arbeitsgang ohne wiederholtes Verdampfen die analytische Trennung eines Aminosäuregemisches (etwa 50 mg) in die 4 Gruppen: aromatische, basische, saure und neutrale möglich ist.

Sie besteht aus drei aufeinander geschraubten Metallfiltern, von denen das oberste (1000 π mm³) mit Essigsäure vorbehandelte Tierkohle (Carbo activatus, Merck) (1), das mittlere (2000 π mm³) mit 0,1 mm Körnchen Wofatit C (*310*), das öfter mit nHCl-Wasser-n/2 NaOH-Wasser-nHCl und schließlich mit 20%iger Essigsäure behandelt war (2), und das untere (8000 π mm³) mit gleichartig vorbereitetem Wofatit KS (3) gefüllt ist. Als viertes Filter dient eines von 4000 π mm³, das mit 0,1 mm körnigem Amberlite IR4 beschickt ist, das mit Wasser-nHCl präpariert war (4).

Das oben wiedergegebene Diagramm (Abb. 6) veranschaulicht den Trennungsgang.

Die in 10 cm³ 5%iger Essigsäure gelösten Aminosäuren werden durch die miteinander verschraubten 3 ersten Filter gepreßt, anschließend weitere 50 cm³ 5%ige Essigsäure. Man entfernt nun das oberste Filter (1), das nur die aromatischen Aminosäuren enthält, und läßt durch die zwei unteren so viel 20%ige Essigsäure laufen, daß noch keine Elution des Histidins aus Filter (2) statthat (Vorversuch). Im Filter (3) werden dabei die sauren und neutralen Aminosäuren adsorbiert.

Dann folgt die Elution der drei Filter, Eindampfen des Eluats aus (3) zur Trockne und Aufnehmen in 10 cm^3 Wasser. Diese Lösung perkoliert man durch das Amberlitefilter (4), aus dem beim Waschen mit 100 cm^3 Wasser nur die neutralen eluiert werden. Die Elution der sauren erfolgt mit 250 cm^3 nHCl.

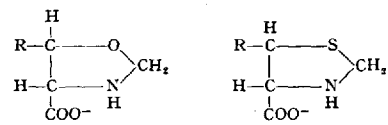
In Tabelle 2 findet sich aus der zitierten Arbeit eine Gegenüberstellung der Befunde in zwei Versuchen mit der berechneten Menge N (als Prozent des Total N).

Tabelle 2.

	Aromatisch	Basisch	Neutral	Sauer	Total
Gefunden . . .	10,7	22,6	47,2	18,2	98,7
	10,5	24,8	46,3	17,3	98,9
Berechnet . . .	9,9	24,8	47,0	18,3	100

Zur Verwendung kam ein künstliches Gemisch aus: 3,92 mg Phenylalanin, 1,96 mg Tryptophan, 1,96 mg Arginin, 3,92 mg Histidin-hydrochlorid, 2,35 mg Asparaginsäure, 9,8 mg Glutaminsäure, 5,61 mg Glycin, 9,36 mg Leucin, 1,87 mg Cystein-hydrochlorid und 3,74 mg Oxyprolin.

Abtrennung der Gruppe: Glycin, Serin, Threonin, Cystein. Formaldehydzusatz führt bekanntlich die neutralen Aminosäuren in alkalititrierbare Säuren über, da ein Proton der Ammoniumgruppe vom Formaldehyd zum Abdissoziieren gezwungen wird. Dabei wird Glycin zu einer stärkeren Säure als z. B. Alanin (vielleicht leichtere Reaktion der primären Aminogruppe), ebenso Serin, Threonin, Cystein, die wohl unter Oxazolidin bzw. Thiazolidinbildung reagieren.



So konnte SCHRAMM (*222*), (*223*) in 10%igem wäßrigem Formaldehyd, nach Neutralisieren gegen Phenolphthalein die genannten 4 Aminosäuren von den anderen neutralen an einer Säule von *saurem Aluminiumoxyd* durch Adsorption abtrennen. 10 g Adsorbens halten etwa 4 mg Glycin oder 12 mg Serin fest, die Elution erfolgt mit 0,5 n Kalilauge.

Weitere Gruppenaufteilungen ergeben sich aus elektrostatischen Veränderungen bei Alkoholzusatz. Während in 90%igem Alkohol alle Aminosäuren, gegen Phenolphthalein neutralisiert, an saurem Aluminiumoxyd hängenbleiben und so von Zuckern abgetrennt werden können [WIELAND (*308*)], heben sich in 50%igem Alkohol zwischen den einzelnen Individuen Unterschiede heraus, die zu Gruppentrennungen ausgenützt werden können, z. B. Prolin, Valin, Leucin von Glycin, Alanin an *Filtrol-Neutrol* [TURBA (*277*)].

Schließlich seien noch die Versuche von KOSCHARA (*146*) erwähnt, der die Hydrochloride der Aminosäuren bei 0 bis —10° C durch Filtrieren durch die 4fache Gewichtsmenge H_2S-vorbehandelter *Tierkohle*

aus 2 n salzsaurer oder alkoholisch-acetonischer Lösung in Fraktionen zerlegte, die sich durch Anreicherung der einen oder anderen Komponente unterschieden. Dabei konnten einzelne Aminosäuren leicht in krystallisierter Form gewonnen werden. Von dieser Arbeitsweise wurde neuer-

Tabelle der Adsorptionsmittel.

Name	Art	Oberfläche je Gramm (in m^2) [1]	Kapazität (g Aminosäure adsorbiert je Kilogramm) [2]
	Kohlen.		
Carbo activatus Aktivkohle Carboraffin	Blutkohlen aus Holz durch Verkohlen mit $ZnCl_2$	1000	300 (aromatische) 50—100 (übrige als Chlorhydrate bei —10°).
Darco Norit	Holzkohle Fichtenholzkohle		
	Erden.		
Floridin XXF Floridin XS Filtrol-Neutrol	Bleicherde aus Florida, fein und gröber Bentonit-Ton (alles Kationenaustauscher, Permutite)	10—20	10 (basische)
	Künstlich-anorganische Austauscher.		
Al_2O_3 (BROCKMANN)	Na^+-haltiger Kationenaustauscher	100	0,1—1 (basische)
Al_2O_3 (sauer)	aus basischem, durch Digerieren mit wäßriger Säure und Waschen (Anionenaustauscher)	100	10 (saure) 1 (Oxyaminosäuren in 10% Formalin)
Decalso	synthetisches Na-Al-Silicat	10—20	10—50 (basische)
Silicagel	aus Wasserglas mit Mineralsäure	600—800	0,5 (basische)
Zinkcarbonat	—	10	
	Organische Austauscher.		
Wofatit K, KS, P	aromatische Kernsulfosäuregruppenhaltige Phenolformaldehydharze		100 (basische), 10 bis 50 (neutrale und saure)
Wofatit C	carboxylhaltiges Bakelit		50 (basische) (5—10 Arginin-Lysin, wenn Kaliumpermutit)
Wofatit M	NH_2-haltiges Harz		10—50 (saure)
Amberlite IR 1, IR 100	Formaldehydphenolsulfosäure		50—100 (basische)
Amberlite IR 4	Phenol-Formaldehyd-Polyamin		100 (saure)
Duolite A_2			150 (saure)

[1] Zum Teil entnommen aus (*73*).

[2] Die Kapazität ist von der Art der Aktivierung, dem Gehalt der Lösung an anderen Bestandteilen, der Konzentration des Adsorbierten, der Durchflußgeschwindigkeit u. a. abhängig. Die Werte geben daher nur die Größenordnung an.

dings zur Vorreinigung vor Anwendung spezifischer Adsorptionsmittel auf die Hydrolysate von Pflanzenproteinen (*75*) und zur Isolierung von L-Methionin aus Caseinhydrolysaten (*84a*) Gebrauch gemacht.

324. Gruppentrennung durch fraktionierte Fällung und Extraktion.

Kupferkomplexe. Die Kupferkomplexe der Aminosäuren unterscheiden sich durch ihre Löslichkeit in verschiedenen organischen Lösungsmitteln. Da in den Komplexen ein Atom Cu von 2 Molekeln Aminosäure gebunden wird, bilden sich bei der Darstellung der Kupferkomplexe eines wäßrigen Aminosäuregemisches gemischte Komplexsalze. Ist, wie z. B. beim Paar Leucin-Alanin, die reine Kupferverbindung der längerkettigen Säure in Wasser sehr schwer löslich, so scheidet sich ihr Kupferkomplex trotzdem aus der Lösung fast quantitativ ab, weil die Komplexe in Lösung zu einem bestimmten Betrag in Cu^{++} + Aminosäure dissoziiert sind, so daß aus dem Gleichgewicht aller Komponenten die am schwersten lösliche ausfällt. Versetzt man eine wäßrige Lösung von Serin-Kupfer mit einem Überschuß an neutralisierter wäßriger Asparaginsäurelösung, so scheidet sich alsbald der schwerlösliche Aspartat-Kupferkomplex auf Kosten des Serins ab. Aus der Tatsache des Bestehens eines Gleichgewichtszustandes folgt andererseits, daß man sehr schwer lösliche Kupferkomplexe durch Zusatz eines Überschusses an Bildnern leicht löslicher in Lösung bringen kann. Vgl. (*142*). Damit ist die theoretische Hauptschwierigkeit jener Methoden angedeutet, die sich zur Zerlegung eines Aminosäuregemisches der verschiedenartigen Löslichkeit der Cu-Komplexe in Methanol und Wasser bedienen (*48*), (*268*), (*270*).

Von den Kupferkomplexen der Aminosäuren, die man am besten durch Schütteln der wäßrigen Lösung mit frisch gefälltem Kupferhydroxyd bereitet (*270*), sind in absolutem Methanol und in Wasser löslich die von Prolin, Oxyprolin, Isoleucin, Valin; nur in Wasser die von Glycin, Glutaminsäure, Serin, Threonin, Alanin, Arginin, Histidin, Lysin (und Methionin); in Wasser und Methanol schwer löslich: Leucin, Phenylalanin, Tyrosin, Asparaginsäure und Cystin. Aus dem oben erwähnten Grund nehmen aber beim Durchschütteln der Kupfersalze mit absolutem Methanol oder Wasser die darin löslichen auch von den anderen Gruppen einen Teil mit, so daß keine eindeutige Trennung zustande kommt. Immerhin gelingt in den Fraktionen eine sehr starke Anreicherung der gewünschten Komponenten. So konnte z. B. bei Anwendung dieses Trennungsganges ein Teil des Serins aus Haarhydrolysat isoliert werden (*34*).

Salze mit organischen Säuren. Nach McCOLLUM und RIDER (*178*) sind die Salze der Aminosäuren mit bestimmten organischen Säuren (z. B. Trichloressigsäure, DL-Camphersulfosäure, Benzolsulfosäure) in

organischen Lösungsmitteln, am besten in Aceton löslich. Man kann also ein trockenes Aminosäuregemisch durch Digerieren mit der acetonischen Lösung einer solchen Säure in Lösung bringen. Da die hierfür nötigen Molverhältnisse Säure:Aminosäure für die verschiedenen Reagentien und Aminosäuren beträchtlich verschieden sind (Tabelle 3), läßt sich bei fraktionierter Ausführung des Auflösungsvorganges eine Unterteilung des Aminosäuregemisches erreichen. Einleiten von Ammoniakgas macht aus der Lösung aller die Aminosäuren in bestimmter Reihenfolge frei, ebenso HCl oder die Zugabe organischer Solventien, in welchen die Addukte nicht löslich sind. Schließlich besteht eine weitere Fraktioniermöglichkeit darin, daß man die acetonische Lösung der Trichloressigsäure-Verbindungen der spontanen Selbstzersetzung aussetzt, die die Säure zu Chloroform und Kohlendioxyd unter der katalytischen Wirkung von Aminosäuren erleidet, wobei die Aminosäuren ausfallen. Die papierchromatographische Untersuchung von zahlreichen Fraktionen eines Hydrolysengemisches, die auf eine der beschriebenen Arten gewonnen waren, zeigte, daß sich die Aminosäuren tatsächlich ihrem in Tabelle 3 aufgezeichneten Verhalten entsprechend anreichern lassen.

Tabelle 3. *Zur Auflösung von 1 Mol Aminosäure in Aceton nötige Mengen an organischen Säuren.*

Aminosäure	Mole Reagenssäure / Mol Aminosäure		
	Trichloressigsäure 0,24 n	DL-Camphersulfosäure 0,2 n	Benzolsulfosäure 0,4 n
Prolin	4,5	1,1	1,0
Threonin	5,5	1,4	1,6
Tyrosin	68,0	1,4	1,4
Isoleucin	5,1	1,0	1,6
Alanin	5,0	1,6	1,8
Valin	5,1	1,4	1,8
Asparaginsäure	53,0	1,6	2,0
Phenylalanin	5,2	0,9	3,2
Serin	20,0	0,8	3,4
Oxyprolin	25,0	2,1	3,6
Leucin	5,4	1,6	4,2
Norleucin	5,4	1,3	7,4
Tryptophan	3,0	28,6	10,6
Cystin	unlöslich	10,0	13,4
Glycin	4,2	> 22,5	16,2
Glutaminsäure	55,0	1,7	44,0
Methionin	6,2	0,9	64,0
Histidin	6,8	3,7	128,0

33. Abscheidung und Bestimmung der einzelnen Aminosäuren.

Es folgt nun die Beschreibung jener Methoden, die zur Aufteilung eines Gemisches aus vielen Aminosäuren zu den einzelnen Individuen

führen. Davon sind manche bei den reichhaltig zusammengesetzten Hydrolysengemischen anwendbar (z. B. die Fällung der Glutaminsäure als Hydrochlorid oder verteilungschromatographische Methoden); man wird sich jedoch zur Vorreinigung und Anreichung in allen Fällen mit Vorteil der geeigneten Gruppentrennungsverfahren bedienen, wie sie in den vorigen Kapiteln aufgezählt sind, um mit einer der nachfolgend geschilderten Arbeitsweisen zu den genauesten Ergebnissen zu gelangen.

331. Abscheidung und Bestimmung durch Fällung (244).

Die Suche nach mehr oder weniger spezifischen Fällungsmitteln für einzelne Aminosäuren bestimmte die Entwicklung der analytischen Aminosäurechemie in ihren Anfängen. Aber auch später, als man mehr und mehr zur Ausarbeitung der spezifischen und bequemer auszuführenden colorimetrischen Bestimmungsweisen überging, blieb der Blick vieler Aminosäurechemiker auf dieses Ziel gerichtet, das vom präparativen Standpunkt aus auch heute größtes Interesse verdient. Die Bedeutung für die quantitative Analyse darf jedoch nicht überschätzt werden.

Die Fällungsreaktionen werden fast ausschließlich in wäßrigem oder zumindest wasserhaltigem Medium ausgeführt. Als Reagentien haben sich anorganische oder organische Säuren, wie auch Basen oder Metallsalze bewährt, deren Anwendung zur Gruppenfällung in Kapitel 321 zum Teil schon beschrieben wurde. So war von der Phosphorwolframsäure die Rede, mit der man die basischen Aminosäuren aus dem Gemisch spezifisch ausfällen kann oder von der Fällung der Dicarbonsäuren mit Erdalkalihydroxyden in stark alkoholhaltiger Lösung.

Metallsalzfällungen. Ag^{+}. Zur quantitativen Aufteilung des Basengemisches kann man sich einer der Modifikationen der KOSSEL-KUTSCHERschen *Silber-Barytmethode* (1900) bedienen, wie sie von VICKERY und LEAVENWORTH (1926—1928) ausgearbeitet worden sind, oder der modernen Mikromethode von BLOCK (*37*). Dabei werden die Komponenten einzeln nacheinander ausgefällt, und zwar zunächst das Histidin mit konzentrierter Silbernitratlösung und Baryt, welches zur Lösung zugegeben wird, bis ein p_H von 7,0—7,4 erreicht ist. In die konzentrierte Mutterlauge gibt man neuerlich Silbernitrat und heißgesättigte Barytlösung bis zum p_H 13—14, wobei Arginin als Silbersalz ausfällt. Aus dem Filtrat wird nun das Ammoniak im Vakuum abgedampft, wonach Lysin durch Phosphorwolframsäure niedergeschlagen wird. Zur Gewinnung definierter Verbindungen muß man die Basen in Salze mit einer der später aufgeführten (S. 243 ff.) organischen Säuren überführen, deren direkte Anwendung auch unter Umgehung der Silber- oder Phosphorwolframsäurefällung empfohlen wird (*273*).

$Hg^{\cdot\cdot}$. Bei p_H 7—7,5 kann man nach FRÄNKEL (1903) (*96*) Histidin spezifisch auch mit *Quecksilbersalzen* fällen, wovon in neuerer Zeit mitunter Gebrauch gemacht wurde (*95*), (*152*). Quecksilbersulfat in schwefelsaurer Lösung, von HOPKINS und COLE 1902 zur quantitativen Tryptophanfällung eingeführt, wird in vielen Bestimmungsmethoden zu diesem Zweck gebraucht, z. B. zur Abtrennung des Tryptophans vom Tyrosin in der colorimetrischen Mikromethode von FOLIN und MARENZI (*92*) oder zur präparativen Gewinnung aus tryptischen Proteinhydrolysaten (*306*), (*69*). Auch 2-Oxytryptophan, ein Baustein des Knollenblätterpilzgiftes Phalloidin wird durch Quecksilberacetat aus der wäßrigen Lösung ausgefällt. Die zur erstmaligen Isolierung des Methionins (*189*) verwendete Quecksilberfällung wurde später in allen Einzelheiten im Hinblick auf eine quantitative Durchführbarkeit untersucht (*263*).

$Cd^{\cdot\cdot}$. Die von KAPFHAMMER und ECK vorgeschlagene Anwendung von *Cadmiumchlorid* in alkoholisch-wäßriger Lösung zur Abtrennung des Prolins vom Oxyprolin (*135*) wurde später von anderen übernommen (*34*), (*268*) (*270*). Sie ist aber bei weitem nicht quantitativ.

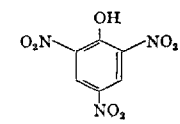
$Cu^{\cdot\cdot}$. Als sehr schwer löslicher *Kupferkomplex* wird die Asparaginsäure allgemein von Glutaminsäure abgetrennt. Nach TOWN (*271*) enthalten die so gewonnenen Präparate aber stets racemische Glutaminsäure. Von der äußerst geringen Löslichkeit des Cystin-Cupri-Komplexes (EMBDEN 1900) macht man zur Entfernung dieser Aminosäure, die mit den zur Histidinfällung benützten Schwermetallen ausfällt, vor der Silberfällung des Histidins Gebrauch. Die Abscheidung des Glycins aus vorgereinigten Aminosäurelösungen gelingt nach TH. WIELAND (*319*) durch Versetzen der wäßrigen Lösung des Kupfersalzes mit Phenol bis zur Sättigung. Dabei scheidet sich eine Komplexverbindung von 1 Mol Glycinkupfer + 2 Mol Phenol in hellblauen Krystallen ab, die zu etwa 0,05% in kaltem phenolgesättigtem Wasser löslich sind. Nach KURTZ (*151*) läßt sich Lysin aus Hydrolysaten durch Benzoylierung der Kupferkomplexe in wäßrig alkalischer Lösung isolieren, wobei das schwerlösliche ε-N-Benzoyl-lysin-Cu zur Abscheidung kommt. Noch bequemer verfährt man nach TURBA (*280*), der die wäßrige Kupferkomplexlösung von Hydrolysaten mit Methanol und Benzaldehyd behandelt, wobei quantitativ ε-Benzyliden-lysin-Cu ausfällt. Dieses gibt, in salzsaurer Lösung mit H_2S zerlegt, und durch Ausäthern vom Benzaldehyd befreit, beim Verdampfen der Lösung krystallisiertes Lysin-dihydrochlorid[1].

$Cu^{\cdot}$. Die Beobachtung von HOPKINS, daß reduziertes Glutathion als schwerlösliches Cupro-mercaptid abgeschieden werden kann, führte zur Einführung von *Cupro-oxyd* oder -salzen, um Cystein quantitativ

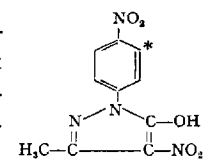
[1] Über die Aldehydverbb. der Aminosäuren vgl. BERGMANN, M., u. L. ZERVAS, Z. physiol. Chem. **152**, 282.

aus Proteinhydrolysaten auszufällen. Cystin wird durch Cupro-Verbindungen zu Cystein reduziert, so daß man durch eine Behandlung mit überschüssigem Cu-oxydul das gesamte Cystin als Cystein aus dem Hydrolysat herausholen kann, z. B. (*20*), (*164*). Allerdings reißt der Niederschlag auch andere Aminosäuren mit, zum Teil wohl, weil das durch Reaktion mit Cystin entstandene 2-wertige Kupfer schwerlösliche Cupri-Komplexe entstehen läßt. Behandelt man ein Jodwasserstoff hydrolysat vor der Cu_2O-Einwirkung mit Alkali, so wird der Thiolactonring des Homocysteins, der aus dem Methionin entstanden ist, geöffnet. Die so gebildete Thiol-Verbindung fällt nun auch als Cupro-mercaptid aus, womit eine indirekte Methioninbestimmung durch Analyse des vor und nach Alkalibehandlung gefällten organischen Schwefels gegeben ist (*25*).

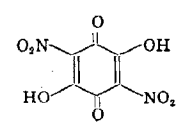
Salze mit organischen Nitrosäuren. Eine Reihe organischer Säuren findet seit Jahrzehnten Anwendung zur krystallinen und weitgehenden Abscheidung verschiedener Aminosäuren, besonders der basischen aus angereicherten Mischungen oder Metallsalzfällungen. Wir geben im folgenden eine kurze Aufzählung der hauptsächlich verwendeten Verbindungen und wahllos einige Zitate ihrer Brauchbarkeit, ohne die zahlreichen Arbeiten, die über diese Art der Abscheidung vorliegen, berücksichtigen zu können. Die schwierigste Aufgabe der Aminosäureanalyse, nämlich die quantitative Trennung oder Bestimmung strukturell nahe verwandter Verbindungen scheint auf dem Weg einer spezifischen Ausfällung auch mit diesen Reagentien nicht befriedigend lösbar zu sein.



Pikrinsäure, als Reagens auf viele organische Basen längst in Verwendung, benützt man zur Abscheidung von Lysin aus den Mutterlaugen der Arginin und Histidinfällung. Sie bildet auch ein schwerlösliches Salz mit Ornithin und Oxylysin.

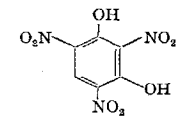


Pikrolonsäure, von STEUDEL (1902) als Fällungsmittel in die physiologische Chemie eingeführt, eignet sich nach KOSSEL als Reagens für Arginin und Histidin. Zur Isolierung von Phenylalanin nach Vorreinigung aus einem Proteinhydrolysat wurde sie von BERGMANN und NIEMANN (*29*) verwendet. Die in Äther leichtlösliche, in Stellung * bromierte Verbindung bildet mit Arginin, Lysin und Histidin schwerlösliche Salze (*331*).



Nitranilsäure wurde 1936 von TOWN (*269*) als Fällungsmittel für Aminosäuren, besonders Glycin, herangezogen, später von BLOCK zur Abscheidung des Histidins empfohlen (*39*). Die Löslichkeit zahlreicher Nitranilate ist bestimmt worden (*188*).

Styphninsäure bildet nach SCHNEIDER in wäßrigem Alkohol von 17 untersuchten Aminosäuren nur mit Lysin ein schwerlösliches gut krystallisiertes Salz, so daß man damit in Abwesenheit von Mineralsäuren 97—98% der Base isolieren kann (*218*).



Metallkomplexsäuren. Hier sind es vor allem komplexe Anionen des dreiwertigen Chroms, die benützt werden.

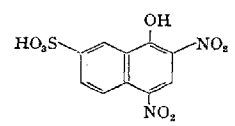
$[Cr(CNS)_4(NH_3)_2]^-$ *Reineckesäure*, ein als Basenfällungsmittel erprobtes Reagens, fällt aus Proteinhydrolysaten, Prolin, Oxyprolin (*133*) und Histidin (*136*). Später hat sich MAX BERGMANN einem eingehenden Studium der Fällbarkeit von Aminosäuren mit Chromkomplexen gewidmet, dem man die Einführung folgender Fällungsreagenzien verdankt:

$[Cr(CNS)_4(C_6H_5NH_2)_2]^-$ *Tetrarhodanato-dianilido-chromsäure, „Rhodanilsäure"*, die mit L-Prolin ein besonders schwerlösliches und gut krystallisiertes Salz gibt (*28*).

$[Cr(C_2O_4)_3]^{---}$ *Trioxalatochromiat.* Es bildet ziemlich spezifisch ein in Alkoholwasser schwerlösliches Salz mit Glycin (*27*).

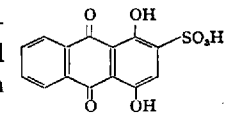
$[Cr(C_2O_4)_2(C_5H_5N)_2]^{--}$ *Dioxalato-dipyridino-chromisäure* (*Dioxpyridinsäure*) bildet mit zahlreichen Monoaminomonocarbonsäuren in Wasser schwerlösliche Salze und eignet sich zur Abscheidung des Alanins (*30*). Im Glycin- und Alanin-reichen Seidenfibroinhydrolysat hat BERGMANN die beiden Aminosäuren mit Hilfe der 2 zuletzt genannten Chromikomplexe quantitativ bestimmt. Nach Ausfällung des Glycins mit dem Oxalatokomplex wurde Alanin-dioxpyridat als schwerstlösliches unter den restlichen fraktioniert ausgefällt. Den Endpunkt der Fällung bestimmte man durch graphische Darstellung der gefällten NH_2-N-Menge mit Zunahme der Niederschlagsmenge. Die so erhaltende Fällungskurve ist eine Gerade mit bestimmter Neigung, welche sich mit Beginn der Salzbildung einer anderen Komponente unter Abknicken ändert.

Organische Sulfosäuren. *Flaviansäuren.* Diese von KOSSEL und GROSS (1924) zur Argininfällung eingeführte gelbe Sulfosäure ist das in der Aminosäureanalyse am häufigsten gebrauchte Fällungsmittel dieser Kategorie. Von den Urhebern der Methode und zahlreichen späteren Bearbeitern wurde die Ausfällung des Arginins aus rohen Hydrolysaten oder angereicherten Basenfraktionen als Monoflavianat durchgeführt, welches verlustarm rein krystallisiert werden kann. VICKERY hat die Methode durch Fällen des noch schwerer löslichen Diflavianats verbessert (*292*). Das Di-salz wird durch Auflösen in Ammoniumhydroxyd und schwaches Ansäuern in der Hitze ins Monosalz verwandelt und als solches rein erhalten. Nachdem aber auch das



Diflavianat des Lysins in Wasser sehr schwer löslich ist (*117*), ist ein zu großer Überschuß an Fällungsmittel nicht ratsam.

Rufiansäure (1,4-Dioxyanthrachinon-2-sulfosäure) ist von ZIMMERMANN als Basenfällungsmittel auf verschiedene Aminosäuren angewendet worden (*331*).



3,4-Dichlorbenzolsulfosäure. Sie hat sich in den Händen von VICKERY als sehr geeignetes Reagens zur quantitativen Abscheidung des Histidins bei p_H 1,2—1,6 bewährt (*293*), (*294*). Die Säure stammt aus einer größeren Liste von Sulfonsäuren, die BERGMANN und Mitarbeiter auf ihr Salzbildungsvermögen mit Aminosäuren untersucht haben (*32*), (*77*), (*243*). Eine Zusammenstellung der ungefähren Löslichkeiten der Salze von Aminosäuren mit einigen Sulfonsäuren findet sich in Tabelle 4.

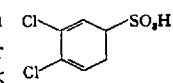


Tabelle 4. *Ungefähre Löslichkeiten der Salze von Aminosäuren mit einigen aromatischen Sulfonsäuren* (g in 100 g Wasser).

Aminosäure	Sulfonsäuren: p-Cl-Benzol-	2,5-Di-brombenzol-	3,4-Di-chlorbenzol-	2,6-Dijod-4-phenol-	Flavian-säure	5-Nitro-naph-thalin-	Azo-benzol-p-	Anthra-chinon-α-	Anthra-chinon-β-
L-Alanin . . .							3	6	5–6
L-Arginin . . .		2	0,1	1	<0,01	0,02	<0,05	<0,05	<0,05
L-Cystein . . .	10						1	5	
L-Cystin . . .					<0,5		<0,5	0,1	<0,1
Glycin					5	3	2,5	2,5	2
L-Histidin . . .			0,05		0,3	0,1	<0,01	<0,01	<0,01
L-Isoleucin . .							3	3	3
L-Leucin . . .	10	7	5	5	3	10	2	3	2
L-Lysin					0,1		0,01	<0,01	<0,01
DL-Methionin .	9–10		5				1,5	2	6
L-Oxyprolin . .				8		4–5			
DL-Phenylalanin	8–9	1	3	2–3	2	1,5	0,5 (L-)	5 (L-)	1 (L-)
L-Prolin				7					
L-Serin								5	
L-Tyrosin . . .	6–7	5		4–5	0,1				5–6
L-Valin							2	5	6

332. Löslichkeitsproduktmethode (31), (184).

Die durch ein Fällungsmittel, z. B. eine der genannten Sulfonsäuren mit einer Aminosäure gebildete Ausbeute an schwerlöslichem Niederschlag ist von der angewandten Menge an Reagens und der vorhandenen Menge an Aminosäure abhängig. Nach vollständiger Fällung verbleiben die Mengen an Reagens (*S*) und Aminosäure (*A*), (beide ausgedrückt in der Konzentration Mol/Liter) in Lösung. Sie

stehen dabei zueinander in einem Verhältnis, das durch das Löslichkeitsprodukt K angegeben wird.

$$K = [S] \times [A].$$

Da die Größe K unabhängig von der angewandten Fällungsmittelmenge und Aminosäurekonzentration theoretisch konstant ist, gestattet die Wägung zweier am selben Aminosäuregemisch mit verschiedenen Mengen Fällungsreagens gewonnener Fällungen einen Rückschluß auf die ursprünglich vorhandene Aminosäuremenge. In praxi geht man nach den Erfindern der Methode BERGMANN, MOORE und STEIN so vor, daß man von der Analysenlösung zwei gleiche Teile mit dem Gehalt von A mMol Aminosäure nimmt. Zum ersten setzt man eine gewogene Menge eines schwer löslichen Salzes dieser Aminosäure zu und stellt nach ausgiebigem Schütteln und Zurückwägen die in Lösung gegangene Salzmenge fest. Haben sich S_1 mMol des Salzes gelöst, so sind, bei äquimolarer Zusammensetzung S_1 mMol des Fällungsmittels und S_1 mMol Aminosäure in Lösung, deren Gesamtkonzentration dann $(A + S_1)$ beträgt. Dann ist

$$K_1 = S_1 \times (A + S_1).$$

Zur zweiten Probe gibt man vor dem Zusatz des Salzes eine kleine Menge des Fällungsmittels (R mMol), die noch keine Fällung erzeugt und bestimmt wie oben die nunmehr in Lösung gehende Salzmenge (S_2 mMol). Es ist dann

$$K_2 = (R + S_2) \times (A + S_2).$$

Da $K_1 = K_2$, so folgt die unbekannte Konzentration an Aminosäure

$$A = \frac{S_1^2 - S_2 (R + S_2)}{(R + S_2) - S_1}.$$

In Wahrheit ist die Konstanz des Löslichkeitsproduktes nicht immer gewahrt, doch läßt sich unter bestimmten experimentellen Bedingungen das Verhältnis $K_1 : K_2$ konstant halten. Die Werte, die mit dieser Methode für einige Aminosäuren in Proteinhydrolysaten gewonnen wurden, stimmen gut mit andersartig ermittelten überein.

333. Trennung durch Ionophorese.

Dieselbe Anordnung, die zur ionophoretischen Trennung von Aminosäuregruppen auf Grund ihrer verschiedenen Nettoladungen ohne Diaphragma geführt hat (S. 230), haben die englischen Autoren auch dazu benützt, um neutrale Aminosäuren voneinander zu trennen (*64*). Deren Beweglichkeit im elektrischen Feld hängt vom Dissoziationszustand (und somit vom p_H) und der Ionenbeweglichkeit ab. Es läßt sich das p_H ausrechnen, bei dem in der Wanderungsgeschwindigkeit zwischen den

ionisierten Aminosäuren die größte Differenz auftritt. Bei p_H 9,2 gelang tatsächlich die Trennung des Glycins vom Serin, bei 9,4 die des Methionins vom Alanin, bei 7 die der Glutaminsäure von Asparaginsäure und bei 6,6 die des Histidins vom Lysin. Später wurde auf dieselbe Weise ein Peptidgemisch aus dem Partialhydrolysat des Gramicidins S in drei Fraktionen zerlegt (*65*). Bei p_H 3,3 kann man nach TH. WIELAND und FISCHER (*315*) unter Ausnützung der verschiedenen isoelektrischen Punkte Asparaginsäure von Glutaminsäure ionophoretisch auf Filtrierpapier abtrennen.

334. Chromatographische Methoden zur Feinaufteilung der Aminosäuregruppen.

Einige der nachfolgend geschilderten Verfahren eignen sich nicht nur zur Aufteilung der Aminosäuregruppen. Sie lassen sich zum Teil auch zur Trennung des Gesamtgemisches heranziehen, doch wird die vorhergehende Gruppentrennung in jedem Fall von Vorteil sein.

334.1. Adsorptions- und Austausch-chromatographie.

Zerlegung des Basengemisches. Nach TURBA (*275*) läßt die unvorbehandelte Naturerde Floridin XXF von den 3 Hexonbasen das Histidin aus neutraler Lösung ins Filtrat passieren. Anschließendes Waschen der Säule mit einer Lösung von primärem Kaliumphosphat führt zu einer fraktionierten Elution, wobei Lysin vor dem Arginin ins Filtrat geht. Die quantitative Elution des Arginins erfolgt mit einer Pyridin-Schwefelsäure-Mischung.

Zerlegung des Gemisches der sauren Aminosäuren. Die an saures Aluminiumoxyd adsorbierten Säuren können fraktioniert mit ln-Essigsäure-Acetatpuffer vom p_H 3,3 bei 50° (*267*) oder mit 0,5 n-Essigsäure bei Zimmertemperatur (*310*) eluiert werden, wobei die Glutaminsäure bedeutend schneller wandert als Asparaginsäure, die anschließend mit verdünnter Lauge oder Pyridin-Ammoniak quantitativ ausgewaschen wird. Der Grund für die verschieden starke Adsorption liegt darin, daß Glutaminsäure beim angewandten p_H praktisch keine Ladung trägt, während Asparaginsäure beim selben p_H zu etwa 30% anionisch und somit adsorbierbar vorliegt.

Die Trennung der beiden sauren Aminosäuren voneinander gelingt auch an einer Amberlite IR 4-Säure (*67*) bei p_H 2,5. Obwohl bei diesem p_H beide Aminosäuren kationisch sind, werden sie vom Anionen-Austauscherharz unter Austausch adsorbiert und treten beim Waschen mit Salzsäure vom selben p_H in relativ kleinen Volumina in derselben Reihenfolge wie oben nacheinander im Eluat auf. Die p_K-Werte scheinen daher bei den adsorbierten Säuren erniedrigt zu sein. Von

Glutaminsäure wurden aus einem Gemisch etwa 90%, von Asparaginsäure 96% wiedergefunden, nachdem zuvor beide zusammen bei p_H 3—4 von allen übrigen am selben Austauscher abgetrennt waren. Noch stärker adsorbiert wird Cysteinsäure, die bei p_H 1,5 als letzte aus der Säule ausläuft und präparativ aus einem Hydrolysat von gechlorter Wolle optisch aktiv isoliert werden konnte.

Zerlegung des Gemisches der neutralen Aminosäuren. *Freie Aminosäuren.* In Modellgemischen aus neutralen Aminosäuren haben TISELIUS und Mitarbeiter den Adsorptionsvorgang an Aktivkohle in chromatographischer Anordnung genau studiert (*258*), (*259*), (*261*). Sie beobachteten das Auftreten der Einzelkomponenten im Filtrat mit Hilfe einer schlierenoptischen oder Interferenzmethode. TISELIUS wendet zur Analyse drei Adsorptionsweisen an, die *Frontal-*, *Elutions-* und *Verdrängungsanalyse.*

Frontal-analyse. Hierbei wird die gemischte Lösung durch die Adsorptionssäule geschickt. Nach einem leeren Volumen, dem sog. Retentionsvolumen, erscheint zuerst die reine, am wenigsten adsorbierbare Komponente, die in ihrer Konzentration konstant bleibt. Zu ihr kommt nach Auslauf des Retentionsvolumens der nächsten Komponente diese in scharfem Durchbruch usw. Bei dieser Arbeitsweise, die nur analytische Bedeutung hat, wird nur ein kleiner Teil der ersten Komponente in reiner Form erhalten. Außerdem dürfen sich die Komponenten nicht gegenseitig vom Adsorbens verdrängen, und die zur Anwendung kommenden Adsorbensmengen sind relativ groß.

Tabelle 5. *Retentionsvolumina von Aminosäuren und Peptiden an Aktivkohle.*

Substanz	Retentionsvolumen in cm³ je g Kohle	Substanz	Retentionsvolumen in cm³ je g Kohle
Alanin	0,3	Histidin	15,0
Oxyprolin	2,0	Arginin	40,4
Prolin	2,5	Tryptophan	76,5
Valin	3,2	Phenylalanin	62,6
Leucin	7,7	Glycylglycin	3,5
Isoleucin	9,2	Leucylglycin	18,2
Methionin	12,4	Leucylglycylglycin	29,8

Einige dieser Nachteile vermeidet die

Elutionsanalyse. Dieses Verfahren entspricht weitgehend der normalen Chromatographie und besteht darin, daß man nach Aufbringen des Stoffgemisches die Säule mit dem reinen Lösungsmittel wäscht. Im Durchlauf treten dann die Komponenten mehr oder weniger konzentriert nacheinander auf, wobei aber die Konzentration der stärker adsorbierten nach raschem Durchbruch nur sehr langsam auf 0 zurückgeht („tailing"). Diese Erscheinung, die mit der Inkonstanz der

Adsorptionskonstante bei verschiedenen Konzentrationen zusammenhängt (aus verdünnten Lösungen wird relativ mehr adsorbiert als aus konzentrierteren), läßt sich ausschalten bei Anwendung der

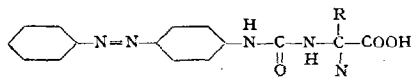
Verdrängungsanalyse. Hierbei wird zur Elution eine stark adsorbierbare Substanz (z. B. 0,25% Phenol in Wasser, Essigester in Wasser oder Essigsäure) verwendet. Diese verdrängt die vor ihr haftende Aminosäure vom Adsorbens und schiebt sie in einer Zone vor sich her, in welcher eine konstante Konzentration erreicht wird. Die Aminosäure wiederum wirkt auf die schwächer adsorbierbare und deshalb vor ihr befindliche in gleicher Weise, so daß bei genügend langer Säule die adsorbierten Komponenten ziehharmonikaartig zusammengeschoben werden und nacheinander, ohne leeres Lösungsmittel im Eluat erscheinen. Gerade diese unvermittelte Folge ist zur Reingewinnung ein Nachteil, doch ist die Größe des Volumens jeder Komponente ein Maß für deren Konzentration.

Die Adsorption an Kohle ist, soviel mir gewahr, auf natürliche Aminosäuremischungen noch nicht mit quantitativ analytischer Zielsetzung übertragen worden. Lediglich der große Unterschied in den Retentionsvolumina zwischen den aromatischen und den anderen Aminosäuren hat, wie auf S. 232 ausgeführt wurde, ihre analytische Anwendung gefunden. Das dürfte zum Teil damit zusammenhängen, daß die optische Einrichtung zu ihrer Verfolgung ziemlich kompliziert und kostspielig ist. Der Verfasser hat deshalb mit E. FISCHER eine einfachere Anordnung zur Feststellung von Aminosäuren im Durchlauf von Adsorptionssäulen ausgearbeitet. Sie besteht darin, daß man die aus einem kleinen Chromatographierrohr auslaufende Flüssigkeit durch eine Capillare auf einen Papierstreifen aufsaugt, der auf eine langsam rotierende Walze aufgespannt ist. Nach der Chromatographie erfolgt die Auswertung durch Besprühen des Papiers mit Ninhydrinlösung oder retentiometrischer Umsetzung mit Kupferacetat.

Eine weitere Möglichkeit zur chromatographischen Fraktionierung der neutralen Aminosäuren ergibt sich beim Arbeiten in 50%igem Alkohol (*277*). In diesem Lösungsmittel werden Cystein quantitativ an wenig essigsäurebehandeltem Aluminiumoxyd, Alanin und Prolin an Filtrol-Neutrol und Alanin an viel saurem Aluminiumoxyd (5 mg an 50 g Adsorbens) festgehalten. Die Chromatographie von Aminosäuren aus wss. Lsg. an Ag_2S ist auch beschrieben worden (*113a*).

Aminosäurederivate. Wegen der Unsichtbarkeit der Aminosäurezonen und ihrer Unlöslichkeit in den meisten organischen Lösungsmitteln hat man auch gefärbte Derivate dargestellt, und diese der TSWETTschen Adsorptionschromatographie unterworfen. Als erste haben KARRER und Mitarbeiter (*137*) die Methylester von Glycin, Alanin, Leucin und Valin mit *p-Phenylazobenzoylchlorid* in die rotbraunen

Acylaminosäureester übergeführt und diese an basischem Zinkcarbonat in Ligroin-Benzol (95/5) chromatographiert. Dabei trennten sie sich in der obengenannten Reihenfolge. Da die quantitative Acylierung auf Schwierigkeiten stößt, eignet sich zur Anwendung auf natürliche Gemische sicherlich besser die glatte Überführung der freien Säuren in die *p-Azobenzol-Harnstoffderivate,*



mit *p-Azophenylisocyanat* wie sie von ZEILE und Mitarbeiter (*329*) vorgeschlagen wurde. Diese Derivate lassen sich, in Gruppen vorgetrennt, nach TURBA (*279*) in Aceton an Zinkcarbonat sauber chromatographisch voneinander trennen. Eine Übersicht über diesen Vorgang gibt Tabelle 6.

Tabelle 6. *Reihenfolge der Azoharnstoffderivate an der* $ZnCO_3$*-Säule nach vorhergeh ender Gruppentrennung [von oben nach unten mit sinkender Adsorbierbarkeit]* (*276*).

Säuren	Aromat.	Oxysäuren	Rest
Asparaginsäure	Tryptophan	Serin	Methionin
Glutaminsäure	Tyrosin	Threonin	Alanin
	Phenylalanin	Glycin*	Oxyprolin
		Cystein*	Leucin
			Valin + Isoleucin
			Prolin

* Erscheinen in der Gruppe der Oxysäuren (S. 237).

Am selben Adsorbens gelang denselben Autoren die Trennung der gelben *2.4-Dinitrophenyl-hydrazone* der Wasserdampf-flüchtigen Aldehyde, die bei der Einwirkung von Ninhydrin auf die Aminosäuren: Methionin, Alanin, Phenylalanin, Norvalin, α-Aminobuttersäure, Leucin, Norleucin, Valin und Isoleucin in quantitativer Ausbeute entstehen. Die Hydrazone der entsprechenden, um ein Kohlenstoffatom ärmeren Aldehyde ordnen sich als Zonen in Petroläther-Tetrachlorkohlenstoff (1:1) an der Zinkcarbonatsäule in obiger Reihenfolge und lassen sich im Eluat photometrisch mit Filter S 43 bestimmen (*275*). Die chromatographische Trennung ähnlicher Hydrazone an Bentonit in Äther-Hexan ist auch beschrieben worden (*304*).

334.2. Verteilungschromatographie (*175*).

Während die Chromatographie aus flüssiger Lösung an fester Phase bekanntlich beim Studium von Naturfarbstoffen von TSWETT erfunden und erst ziemlich spät von den Proteinanalytikern aufgegriffen wurde, ist das nachstehend geschilderte Prinzip der Verteilungschromatographie von MARTIN und SYNGE zum Zweck der Analyse von Amino-

säuremischungen erdacht worden (*105*), (*172*). Hierbei führt nicht die sehr oft wiederholte Adsorption und Elution am Säulenmaterial zur Ausbildung von verschieden schnell wandernden Zonen aus Substanzen mit verschiedenen Adsorptionskoeffizienten. Eine chromatographische Trennung tritt auch dann ein, wenn der Vorgang des Ausschüttelns zwischen zwei begrenzt mischbaren Phasen in vielen Stufen hintereinander durchgeführt wird.

Eine geeignete Anordnung haben die genannten Autoren angegeben, die in Silicagel die Hälfte des Gewichts an methylorangehaltigem Wasser aufsaugen ließen und diese gelbe, stabile, wäßrige Phase, aufgeschlämmt in Chloroform in ein Rohr einfüllten. An einer solchen Säule lassen sich die *N-Acetylderivate der Aminosäuren* mit Chloroform/0,5—1% Butanol als diskrete Zonen nach unten waschen, deren Lage durch den nach rot umgeschlagenen Indicator sichtbar wird. Maßgebend für die verschiedenen Wanderungsgeschwindigkeiten ist dabei der Verteilungskoeffizient zwischen den Phasen. Jene Acetylaminosäuren, die die organische Phase bevorzugen, wandern schneller als solche, die hydrophiler sind. Bei Kenntnis der Rohrfülldaten ist der Zusammenhang zwischen Verteilungskoeffizient und Wanderungsstrecke (R = Wanderungsstrecke des Zonenschwerpunktes : Wanderungsstrecke des Lösungsmittelmeniscus im unbeschickten Rohrteil) leicht zu berechnen. Die durch Messung von R gewonnenen Werte für die Verteilungskoeffizienten stimmen mit den direkt gemessenen bei vielen N-Acetylaminosäuren gut überein. Damit ist erwiesen, daß in diesen Fällen nur der Verteilungsvorgang zwischen beiden Phasen regiert. In einer Säule von 20—30 cm Länge findet der theoretische Verteilungsvorgang etwa 1000mal statt. Da sich die nacheinander austretenden N-Acetylaminosäuren mit n/100 Baryt titrieren lassen, war so eine Methode gefunden, die die Bestimmung zahlreicher Aminosäuren in Proteinhydrolysaten gestattet, nachdem man nach der Hydrolyse das Gemisch mit Essigsäureanhydrid in 2 n-Lauge quantitativ acetyliert hat. Die quantitative Durchführung der Acetylierung scheint allerdings gewisse Schwierigkeiten zu bereiten. Um Gruppen zu unterscheiden, die beim Arbeiten in einem Lösungsmittel zusammenwandern, benützt man im weiteren Gang andere Kombinationen, wie z. B. Propanol-Cyclohexan u. a. Auch wurden andere Indicatoren, wie Päonin (*106*) oder ein Azofarbstoff (*158*) vorgeschlagen. Eine Untersuchung aller störenden Einflüsse bei der Chromatographie stammt von TRISTRAM (*274*).

Die Technik, die von den Erfindern beinahe zu einer Routinemethode ausgearbeitet ist, hat zur Bestimmung der Aminosäuren: Phenylalanin, Leucin-Isoleucin, Valin, Alanin, Prolin, Tyrosin, Methionin und Tryptophan in 25 mg diverser Proteine und Peptide Anwendung gefunden. Die Genauigkeit beträgt etwa $\pm 5\%$.

Andere Aminosäurederivate, die an Silicagel chromatographiert werden können, sind die gelb gefärbten *N-2,4-Dinitrophenylaminosäuren*, die aus den Aminosäuren mit Dinitrofluorbenzol unter ähnlichen Bedingungen einer SCHOTTEN-BAUMANN-Synthese entstehen. Es reagieren auch Aminogruppen intakter Proteine (SANGER). Diese Derivate sind gegen Säure so stabil, daß sie eine saure Proteinhydrolyse zum größten Teil überstehen, und man die endständigen Aminoacylreste infolge ihrer Markierung nachträglich erkennen kann (*206*), (*216*).

Weiterhin kann man nach TH. WIELAND die *Cu-Komplexe* von neutralen Aminosäuren einer Chromatographie an Kieselgel-Wasser in Phenol-Chloroform unterziehen. Die in der Reihenfolge Valin + Leucin, Alanin, Oxyprolin, Threonin, Serin, Glycin nacheinander auslaufenden blauen Zonen werden jodometrisch titriert (*314*). Während sich die Verteilungschromatographie der N-Acetylaminosäuren für die in Wasser weniger löslichen Aminosäuren eignet, kommt man bei den hydrophilen Glycin, Serin, Threonin mit den Cu-Komplexen besser zum Ziel. So bereitet z. B. die Isolierung von Threonin aus Casein auf diese Weise keine Schwierigkeit.

Verteilungschromatographie der freien Aminosäuren. Einer Anwendung des bewährten Prinzips auf die freien Aminosäuren stand vor allem die Schwierigkeit einer Sichtbarmachung von Zonen entgegen. Es blieb daher nichts anderes übrig, als den Durchlauf in kleinen Fraktionen aufzufangen und mit Ninhydrin das Auftreten von Aminosäuren festzustellen. In Versuchen mit wassergesättigtem Butanol an einer Säule von 30% wasserhaltigem Aluminiumoxyd gelang dem Verfasser die Trennung des Leucins und Valins von Alanin glatt (*311*), doch war zur Elution des letzteren ein großes Butanolvolumen nötig, was auf das Auftreten von Adsorptionskräften neben dem reinen Verteilungsvorgang schließen ließ. Die Anwendung von Phenol als organischer Phase lieferte am gleichen Füllkörper bessere Resultate.

Das gleichzeitig von der englischen Gruppe zum selben Zweck verwendete Silicagel-Wasser zeigte ebenfalls stark adsorbierende Wirkung auf die freien Aminosäuren (*104*). Deshalb schlugen ELSDEN und SYNGE (*85*), (*253*) rohe Kartoffelstärke als Träger der wäßrigen Phase vor (Wassergehalt 20—30%), die sich bei der Fraktionierung eines Gramicidinhydrolysats bewährte. Die Aminosäurezonen, die sich in n-Butanol bildeten, konnten nach Durchgeben einer ätherischen Ninhydrinlösung und Erwärmen sichtbar gemacht werden. Zur Fraktionierung fing man den Durchlauf portionsweise auf und testete mit Ninhydrinpapier auf den Gehalt an Aminosäuren oder Peptiden.

Durch die Konstruktion eines vollautomatischen Fraktionskollektors und die quantitative Gestaltung der Ninhydrinreaktion haben MOORE und STEIN die Verteilungschromatographie der freien Aminosäuren an

Stärke zu einer sehr genauen Aminosäuretrennungs- und -analysenmethode gemacht (*185*), (*186a*), (*245*).

Die zur Analyse benützte Apparatur besteht aus einem Chromatographierrohr von 30—40 cm Länge und 1—2 cm ∅, dessen Auslauf in 4mal 80 Reagensgläsern aufgefangen wird, die sich auf 4 konzentrischen Kreisen auf einer Scheibe ruckweise unter ihm wegdrehen. Unter dem Auslauf des Rohres wird ein fokussierter Lichtstrahl, der auf eine Photozelle fällt, durch jeden Tropfen, der aus der Säule abfällt, unterbrochen. Die hierdurch auftretende Schwächung des Photostroms betätigt über einen Verstärker einen Impulszähler, der nach einer gewünschten Zahl von Impulsen eine Maschine in Gang setzt, die das Karusell um $^1/_{80}$ Umdrehung weiterbefördert und so das nächste Glas unter die Säule bringt.

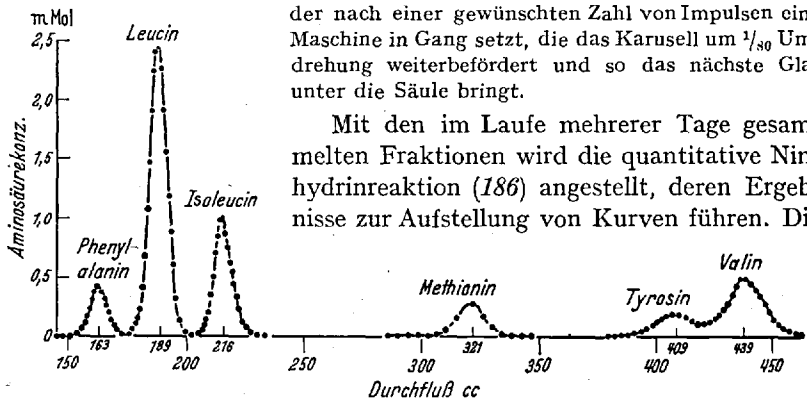


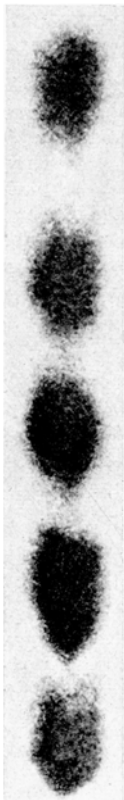
Abb. 7. Chromatographische Analyse eines Hydrolysats von β-Lactoglobulin. Lösungsmittel: 1:1:0,288 n-Butanol-Benzylalkohol-Wasser. Säule: 52 g Stärke (wasserfrei); Durchmesser: 1,9 cm, Höhe: 30 cm. Einwaage: etwa 20 mg Aminosäuren.

Mit den im Laufe mehrerer Tage gesammelten Fraktionen wird die quantitative Ninhydrinreaktion (*186*) angestellt, deren Ergebnisse zur Aufstellung von Kurven führen. Die Integration ergibt die Mengen an den getrennten Aminosäuren. In Abb. 7 ist die chromatographische Analyse von 6 Aminosäuren eines β-Lactoglobulinhydrolysats in einer Butanol-Benzylalkohol-Wassermischung dargestellt. Die Werte stimmen bis auf den des Isoleucins sehr gut mit den neuesten auf verschiedenen anderen Wegen erhaltenen analytischen Daten überein.

334.3. Papierchromatographie.

Als Träger für die wäßrige Phase bei der Verteilungschromatographie eignet sich hervorragend Cellulose (*104*), und zwar, wie schon von SCHÖNBEIN und GOPPELSRÖDER bei ihrer Capillaranalyse verwendet, in Form von *Filtrierpapier*[1], das etwa 20% Feuchtigkeit aufnehmen kann. Im Gegensatz zur Capillaranalyse, bei der ein Filterpapierstreifen in die meist wäßrige Lösung des Stoffgemisches mit dem unteren Ende eingehängt wird, worauf die verschiedenen Komponenten darin verschieden hoch aufsteigen, bringen CONSDEN, GORDON und MARTIN (*63*) das Aminosäuregemisch als Tropfen einer Lösung ans

[1] Geeignete Sorten sind z. B. WHATMAN Nr. 1 und 4, sowie einige Fabrikate der deutschen Firmen Schleicher und Schüll und Macherey, Nagel u. Co, deren Sorten sich aber zur Zeit noch im Stadium der Standardisierung befinden.



obere Ende eines Papierstreifens. In diesem ließen sie dann, das Prinzip der Verteilungschromatographie benützend, ein mit Wasser begrenzt mischbares, wassergesättigtes Lösungsmittel herabsickern. Die Anordnung, bei der der Papierstreifen aus einem Trog mit dem organischen Lösungsmittel frei nach unten hängt, wird in eine Glas- oder Tonkammer gebracht. Auf ihrem Boden befindet

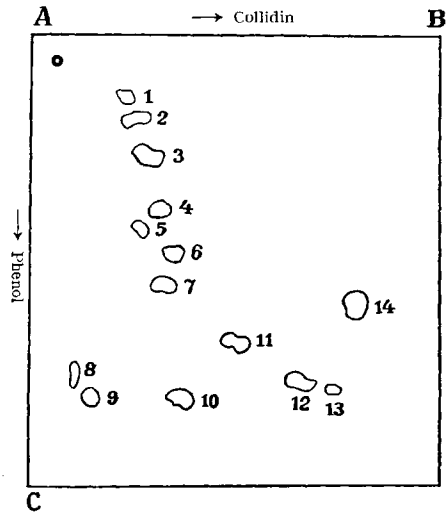


Abb. 8b. Zweidimensionales Papierchromatogramm (Phenol, Collidin) eines Hydrolysates von Wolle nach (*63*). 1 Cystin, 2 Asparaginsäure, 3 Glutaminsäure, 4 Serin, 5 Glycin, 6 Threonin, 7 Alanin, 8 Lysin, 9 Arginin, 10 Prolin, 11 Valin, 12 Leucin, Isoleucin, Methionin, 13 Phenylalanin, 14 Tyrosin. ($^1/_5$ natürliche Größe.)

sich zur Sättigung der Atmosphäre mit seinen Dämpfen das verwendete Lösungsmittelgemisch. Außerdem kann man die Atmosphäre mit wenig Ammoniak oder Trimethylamin basisch oder mit Eisessig sauer machen, sowie zur Vermeidung von schwermetall-katalysierten Oxydationen Blausäure (als einige Milligramm KCN) oder CO-Gas, am bequemsten als Leuchtgas, zusetzen. Als Lösungsmittel eignen sich, nach Sättigung mit Wasser, Phenol, 2.4-Lutidin-haltiges 2,4,6-Collidin (immer „Collidin" genannt), Butanol, Benzylalkohol, oder eine Mischung aus beiden,

Abb. 8a. Eindimensionales Papierchromatogramm (aufsteigend). Reihenfolge (von oben nach unten): Leucin, Valin, α-Aminobuttersäure, Alanin, Glycin, Gemischtropfen-

aber auch wasserlösliche wie Äthylalkohol, Pyridin u. a. Nachdem die Lösungsmittelfront am Ende des 20—50 cm langen Streifens angelangt ist (6—48 Stunden), wird er herausgenommen, getrocknet und

zur Sichtbarmachung mit 0,1%iger Ninhydrinlösung in wassergesättigtem Butanol besprüht, in einen Schrank von 100° gehängt. Nach kurzer Zeit zeigen sich nun die verschiedenen Aminosäuren als diskrete Farbflecken. Abb 8a zeigt das 1-dimensionale Papierchromatogramm einer Mischung von Glycin, Alanin, α-Aminobuttersäure, Valin und Leucin in einer n-Butanol-Propionsäure-Wasser-Mischung.

Zur Wiedergabe wurde der Streifen nach der Sichtbarmachung mit Ninhydrin auf eine photographische Platte gelegt und belichtet. Die Abbildung stellt einen Kontaktabzug dieses Negativs dar.

Da die im Vergleich zur Lösungsmittelfront von den Aminosäuren zurückgelegten Strecken (R_F) in den verschiedenen Lösungsmitteln verschieden sind, empfiehlt sich die Analyse derselben Mischung mit mehreren Solventien. *Zwei* Lösungsmittel kann man auf einem rechteckigen Papierblatt nacheinander zur Anwendung bringen, indem man den Gemischtropfen in die obere Ecke setzt und zunächst mit dem einen Lösungsmittel parallel zu einem Rand entwickelt, hierauf trocknet und nun das um 90° gedrehte Blatt in den Trog mit der zweiten Flüssigkeit so einhängt, daß das in einer Dimension bereits entwickelte Chromatogramm horizontal oben sitzt. Die zweite Chromatographie verteilt nun die Aminosäuren in einem charakteristischen Muster über das ganze Papierblatt (2-dimensionales Papierchromatogramm) (s. Abb. 8b).

Später hat DENT, der die neue Methode auf klinische, tier- und pflanzenphysiologische Problemstellungen anwandte, über 60 ninhydrin-positive Substanzen auf ihr Verhalten im 2-dimensionalen Phenol-Collidin-Chromatogramm untersucht und eine Karte mit der Lage aller Verbindungen angegeben (*74*).

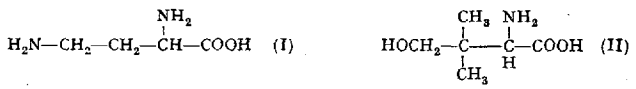
Tabelle 7. *R_F-Werte von Aminosäuren in verschiedenen Lösungsmitteln.*

Lösungsmittel	Phenol	Collidin	n-Butanol	Benzylalkohol	Isobuttersäure
Glycin	0,40	0,25	0,05	0,02	0,36
Alanin	0,55	0,32	0,08	0,03	0,44
Valin	0,78	0,45	0,20	0,11	0,65
Leucin	0,84	0,58	0,38	0,21	0,78
Isoleucin	0,82	0,54	0,37	0,18	0,76
Phenylalanin	0,86	0,59	0,43	0,36	0,80
Tyrosin	0,59	0,64	0,28	0,14	0,58
Serin	0,33	0,28	0,05	0,01	0,34
Threonin	0,50	0,32	0,07	0,02	0,43
Oxyprolin	0,66	0,34	0,07	0,04	0,42
Prolin	0,87	0,35	0,12	0,12	0,57
Tryptophan	0,76	0,62	0,35		
Histidin	0,72	0,28	0,06	0,02	0,45
Arginin	0,67	0,16	0,03	0,01	0,40
Ornithin	0,40	0,13	0,01	0,00	0,24
Lysin	0,50	0,14	0,01	0,00	0,27
Asparaginsäure	0,14	0,22	0,01	0,00	0,31
Glutaminsäure	0,24	0,25	0,01	0,00	0,38
Methionin	0,82	0,57	0,26	0,17	0,69

In Tabelle 7 findet man die R_F-Werte von 20 Aminosäuren in verschiedenen Lösungsmitteln.

Cyst(e)in zersetzt sich teilweise oxydativ und wird am besten nach H_2O_2-Oxydation als Cysteinsäure mit einem sehr kleinen R_F-Wert in fast allen Lösungsmitteln nachgewiesen. Die basischen Aminosäuren (außer Histidin) zeigen in alkalischer Atmosphäre in Phenol größere R_F-Werte, die sauren unter den gleichen Bedingungen kleinere.

Die Methode mit ihrem winzigen Materialaufwand hat sich als diagnostisch eminent wertvoll erwiesen und ist seit ihrer Veröffentlichung von zahlreichen Chemikern auch auf anderen Arbeitsgebieten verwendet worden. In der Aminosäurechemie hat man damit eine neue, in der Natur bisher noch nicht aufgefundene Aminosäure entdeckt, nämlich $\alpha.\gamma$-Diamino-buttersäure (I) als Spaltprodukt des Antibioticums „Aerosporin" (Polymyxine A—E) (*57*). Die zweite Entdeckung, die der α-Amino-$\beta.\beta$-dimethyl-γ-oxy-buttersäure (Pantonin) (II) im Hydrolysat von Escherichia coli (*1*) bedarf noch der Bestätigung.



Von besonderer Wichtigkeit für die Strukturanalyse von Proteinen ist wohl die Tatsache, daß auch niedere Peptide auf diese Weise getrennt und mikropräparativ weiter verarbeitet werden können. Zu diesem Zweck bringt man mehrere Tropfen nebeneinander auf den Papierstreifen, chromatographiert diese Reihe senkrecht und eluiert nun nach Ausschneiden der Zonen mit Wasser jeweils in eine Capillare, in der man mit 6 nHCl hydrolysiert. Danach stellt man papierchromatographisch die Spaltaminosäuren fest und verfährt in derselben Weise nach Behandlung des eluierten Peptids mit nitrosen Gasen. Eine endständige Aminosäure wird dabei desaminiert und findet sich nicht mehr als solche im Hydrolysat (*66*).

Es sind auch andere Anordnungen angegeben worden, bei denen man das Chromatogramm von unten nach oben durch Aufsteigenlassen der organischen Phase entwickelt. WILLIAMS und KIRBY (*320*), deren Technik sich heute allgemeiner Beliebtheit erfreut, stellen das rechteckige Papierblatt, an dessen Ecke der Gemischtropfen sitzt, zylindrisch gerollt in eine Schale mit dem organischen Lösungsmittel und lassen dieses darin hochsteigen. Nach dem Trocknen rollen sie es um die zweite Achse und erhalten nach Aufsteigen des anderen Lösungsmittels das 2-dimensionale Chromatogramm. Wir lassen das Blatt, an einem V2A-Stäbchen aufgehängt, in eine Schale mit dem organischen Solvens hängen und machen so zur Entwicklung ebenfalls vom capillaren Aufstieg Gebrauch. Beide Techniken werden unter einer Glasglocke ausgeführt.

Die papierchromatographische Trennung läßt sich natürlich auch mit Derivaten der Aminosäuren ausführen, z. B. mit den N-p-J-Phenylsulfonylverbindungen der Aminosäuren (*140a*) oder nach eigenen Erfahrungen mit den Cu-Komplexen von einfacher zusammengesetzten Aminosäuregemischen. Dabei bewährt es sich, den Papierstreifen vorher mit der wäßrigen Phase anzufeuchten.

Quantitative Auswertung. Zur quantitativen Bestimmung von Aminosäuren auf Papierchromatogrammen liegen mehrere Methoden vor, die zum Teil schon im Kapitel 312 kurz gestreift worden sind. Am einfachsten wäre es wohl, die nach Ninhydrineinwirkung entwickelten farbigen Flecken quantitativ zu eluieren und im Eluat colorimetrisch den Farbstoffgehalt zu bestimmen. Da aber die Farbstoffbildung ohne besondere Vorsichtsmaßregeln nicht quantitativ verläuft, kann dieses Verfahren nur angenäherte Werte liefern. Besser werden die Ergebnisse, wenn man eine künstliche Vergleichsmischung derselben Aminosäuren in etwa derselben Zusammensetzung nebenher mitchromatographiert und die Farben der unbekannten Aminosäuren nach Ninhydrineinwirkung und Acetonelution mit denen der Standardmischung vergleicht. Verläßlichere Werte soll eine als „Fleckverdünnungsverfahren" (spot-dilution method) bezeichnete Technik liefern, bei der sowohl die natürliche Aminosäuremischung als auch die Standardmischung in verschiedenen Verdünnungen chromatographiert werden, wonach Vergleiche der Farbintensität und Größe der Flecken zu sichereren Werten führen (*204*). NAFTALIN (*190*) empfiehlt die Lage der Aminosäuren auf dem Chromatogramm mit sehr verdünnter Ninhydrinlösung sichtbar zu machen, die Flecken auszuschneiden und in flüssiger Phase (wenig 5%iges Ninhydrin in H_2O-ges Butanol) im Reagensglas den Farbstoff vollständig zu entwickeln, mit 75%igem Aceton zu extrahieren und bei 606 mμ im Spektrophotometer zu bestimmen.

Da die Fleckengröße einer Aminosäure im Papierchromatogramm ihrer Konzentration logarithmisch proportional ist, gelingt eine quantitative Bestimmung durch planimetrische Flächenausmessung nach Ninhydrineinwirkung und Vergleich mit der Größe von Flecken bekannter Konzentration [FISHER u. a.] (*87*). Bestimmung der Fleckengröße gemeinsam mit Messung der durch Ninhydrin erzeugten Farbstärke auf dem Papier durch ein photoelektrisches Densitometer für durchfallendes Licht führt ebenfalls zu quantitativen Werten (*43*), (*51*).

Weitere Verfahren beruhen auf der quantitativen Bildung der Cu-Komplexe. So lassen sich die Aminosäureflecken durch Schütteln mit dem POPE-STEVENS-Reagens (s. S. 219) als Cu-Komplexe eluieren, wonach man nach Abzentrifugieren in der klaren Lösung das Kupfer colorimetrisch (*326*) oder polarographisch (*174*) bestimmen kann. In

beiden Fällen wird mit Flecken aus Chromatogrammen von Standardmischungen verschiedener Konzentrationen verglichen.

Die Resultate der neuartigen Retentionsanalyse (s. S. 220) an Papierchromatogrammen künstlicher Aminosäuregemische (s. Abb. 9) sind so zufriedenstellend, daß auch mit ihrer erfolgreichen Anwendung auf natürliche Mischungen gerechnet werden kann.

Abb. 9. Retentiographie eines Papierchromatogramms von 5 Aminosäuren. In Abb. 9 ist die Retentiographie des Papierchromatogramms einer verdünnteren Lösung (je 1%) von Serin, Glycin, Threonin, Alanin und Oxyprolin mit 15% wasserhaltigem Phenol, dem zur Ausschaltung von Cu-Spuren ganz wenig Rubeanwasserstoff zugesetzt war, wiedergegeben. Die Flächen der 5 deutlich getrennten Gipfel verhalten sich wie: 1,25:1,75:1,17:1,53:1,0. Berechnet ist: 1,30:1,74:1,13:1,50:1,0.

Die Wiedergabe der Retentiographie (Abb. 9) ist so erfolgt, daß der Verlauf der Cu-Front auf durchsichtigem Papier genau nachgezeichnet und mit den Lückenspitzen nach oben so abgebildet wurde, daß die am langsamsten wandernde Aminosäure links steht.

Die Verwendung von radioaktivem Kupfer ist ebenfalls vielversprechend. Nach Versuchen von TH. WIELAND und FISCHER (*315*) gelingt es, Aminosäureflecken auf Papier durch Aufsteigenlassen einer 1%igen Lösung von Acetylacetonkupfer in Chloroform im formamidvorbehandelten Blatt quantitativ in die Cu-Komplexe überzuführen. Durch Spülen mit Chloroform läßt sich das Cu-Reagens weitgehend aus dem Papier entfernen. In Zusammenarbeit mit H. MAIER-LEIBNITZ und K. SCHMEISER gelang es, zu zeigen, daß in Papierchromatogrammen von Aminosäuren sich die Konzentration der Flecken exakt mit dem Zählrohr messen läßt, wenn man zur Verkupferung radioaktives Cu^{64} (HZ 12, 8 h) verwendet hat (unveröffentlichte Versuche).

335. Verschiedene Fraktioniermethoden.

Es sind noch einige weitere Methoden beschrieben, die ohne Anwendung von Fällungsmitteln, Adsorbentien oder eines elektrischen Feldes zur Aufteilung von Aminosäuregemischen herangezogen werden können.

Verteilung, Extraktion. Nach ZEILE und Mitarbeiter (*329*) kann man eine Fraktionierung von Aminosäuren dadurch erzielen, daß man sie mit p-Benzolazoisocyanat in die gefärbten Ureidosäuren überführt, die sich durch Ausschütteln mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln aus gepufferten Lösungen von variierter H-Ionen- und Salzkonzentration voneinander trennen lassen. Die Derivate lassen sich im violetten Licht quantitativ colorimetrisch oder photometrisch bestimmen. — Große Anwendungsmöglichkeit versprechen ferner die in

neuester Zeit beschriebenen Gegenstromverteilungsapparate (S. 292 ff.) bei den freien Aminosäuren oder ihren verschiedenen Derivaten.

Fraktionierte Destillation. Die EMIL FISCHERsche Esterdestillationsmethode ist in letzter Zeit nicht mehr herangezogen worden, obwohl die Konstruktion hochwirksamer Destillierkolonnen eine quantitative Fraktionierung von Gemischen mit den hier vorliegenden Siedepunktsunterschieden leicht erscheinen läßt, besonders wenn man die in letzter Zeit beschriebene „amplified"-Destillation mit einem Trägerdampf heranzöge. Die Schwierigkeiten bei den Aminosäureestern scheinen aber vornehmlich bei deren Unbeständigkeit und Tendenz zur Diketopiperazinbildung zu liegen.

Hingegen sind die aus einigen Aminosäuren durch Ninhydrineinwirkung erhältlichen Aldehyde von VIRTANEN und Mitarbeitern (*296*), (*297*) fraktioniert aus der wäßrigen Lösung abdestilliert und jodometrisch bestimmt worden. Die chromatographische Trennung ihrer Dinitrophenylhydrazone s. S. 250.

336. Verwendung von Isotopen.

Isotopenverdünnungsmethode (*232*). Durch Zusatz einer bestimmten Menge von einer mit einem isotopen Atom markierten Aminosäure zum Gemisch und anschließender Isolierung einer Probe dieser Säure läßt sich aus dem nunmehrigen Isotopengehalt eine scharfe Aussage über die fragliche Konzentration machen (*107*). Als einfachstes Beispiel sei angenommen, daß man zu einem Proteinhydrolysat, das 1 g (= die zu ermittelnde Menge) L-Glutaminsäure enthält, gerade 1 g L-Glutaminsäure mit 100% ihres Stickstoffs als N^{15} zusetzt. Da sich die Merksubstanz genau aufs Doppelte verdünnt hat, ist der Isotopengehalt einer isolierten Probe dann auf die Hälfte gesunken. Aus der Verdünnung am Isotopen läßt sich also die gesuchte Konzentration (B) errechnen. Die allgemeine Formel hierfür lautet:

$$B = \left[\frac{C_0}{C} - 1\right] A.$$

Darin ist A die Menge an zugesetzter Merksubstanz, C_0 die Isotopenkonzentration (als Überschuß über den naturgemäßen Gehalt) in A und C derselbe Wert in der isolierten Probe. Wie man sieht, spielt die Menge an isolierter Substanz für die Berechnung keine Rolle, was die Gewinnung eines reinsten Krystallisates in den meisten Fällen möglich macht. Diese Anforderung muß neben einem optimalen Verhältnis von $C_0 : C \simeq 10$ erfüllt sein, wenn die Isotopenmethode mit einem Fehler von 1—2% sicher arbeiten soll.

Während die bisher besprochenen analytischen Arbeitsweisen zwischen L- und D-Formen der Aminosäuren keinen Unterschied machen,

spielt hier die Konfiguration eine große Rolle. Durch Zusatz von reiner L-Merksubstanz ermittelt man den absoluten Gehalt einer Mischung an der L-Form der gesuchten Säure. Um auch den an D-Form zu finden, wäre es am einfachsten, neben der L- auch eine Probe von reiner D-Form nach Zusatz von markierter DL-Substanz zu isolieren. Da dies aber meist auf praktische Schwierigkeiten stößt, ist es einfacher, durch Messung der Drehung einer Probe, die beide Antipoden enthält, den Racemgrad festzustellen und aus ihm und dem Isotopengehalt den Gehalt an D-Form zu berechnen, z. B. (*312*).

Zur Ausführung der Analyse setzt man reinste Merksubstanz in abgewogener Menge dem Gemisch zu und isoliert daraus nach der günstigsten Methode eine Probe der Aminosäure, deren Reinheit durch Elementaranalyse und Drehungsmessung gesichert werden muß. Hierauf folgt die Ermittlung des Isotopengehaltes. Als Merkatome sind bisher Deuterium und vor allem N^{15} verwendet worden, dessen Konzentration im Verbrennungsstickstoff recht bequem massenspektrographisch gemessen werden kann. Bis jetzt ist nach dieser Methode der Gehalt an L-Tyrosin, L-Leucin, L-Phenylalanin, L-Arginin, L-Lysin, L-Glutaminsäure und D-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure und Glycin in einigen interessanten Proteinen bestimmt worden.

Mit der leichten Zugänglichkeit von radioaktivem Kohlenstoff, vor allem in den angelsächsischen Ländern, wird man aber bald die viel einfachere Konzentrationsbestimmung am radioaktiven Isotopen heranziehen, um für die wichtigsten Eiweißkörper die zuverlässigsten Werte an den einzelnen Aminosäuren zu erhalten. Dieses Projekt dürfte gefördert werden durch die Leichtigkeit, mit welcher man heute die meisten Aminosäuren synthetisieren kann, und durch die Schnelligkeit des Fortschritts, den man bei der Entwicklung der Trennungs- und Isolierungsmethoden natürlicher Aminosäuremischungen beobachtet.

Isotop-Derivat-Methode. Das umgekehrte Prinzip benützt die Trägermethode von KESTON und Mitarbeiter. Dabei wird die zu analysierende Substanzmischung quantitativ mit einem isotopenhaltigen Reagens ins Gemisch der Derivate übergeführt. Bei Aminosäuren benützt man z. B. Radio-Jod (I^{131})-haltiges p-Jodphenyl-sulfonylchlorid („Pipsylchlorid"), das man in bicarbonatalkalischer Lösung heiß zur Einwirkung auf die Aminosäuren bringt. Darauf wird mit einem großen Überschuß (W) des *nicht*isotopen Pipsylderivats der gesuchten Aminosäure als Träger versetzt und anschließend eine Probe davon isoliert und zur konstanten Isotopenkonzentration (C_c) gereinigt. Bei Kenntnis der Konzentration am Isotop in einem aus demselben radioaktiven Pipsylchlorid aus derselben Aminosäure bereiteten Derivat (C_r) läßt sich die Menge am Isotopderivat in der Analysenlösung (w) leicht berechnen, da sich

die molaren Aktivitäten umgekehrt wie die Mengen an Pipsylaminosäure verhalten:

$$\frac{C_c}{C_r} = \frac{w}{w + W}.$$

Bei großem Überschuß an W wird im Nenner w verschwindend klein, und es gilt für die Menge am isotopen Aminosäurederivat:

$$w = \frac{W C_c}{C_r}.$$

Mit dieser Methode sind kürzlich die Konzentrationen an Glycin, Alanin und Prolin in einigen krystallisierten Proteinen bestimmt worden, wobei zur Reinigung der Träger u. a. Gegenstromverteilungs-Operationen angewandt wurden (*140b*). Verteilungs- und Papier-Chromatographie scheinen dabei mit Vorteil anwendbar zu sein (*140a*).

34. Spezielle Analysenmethoden ohne Isolierung.

Diese zum Teil sehr spezifischen Methoden, die den Vorzug bequemer Ausführbarkeit besitzen, lassen sich auf das Gesamtgemisch anwenden. Es hat sich jedoch in vielen Fällen als günstig erwiesen, eine Vorreinigung, d. h. Gruppentrennung vorzunehmen. Solange die Aminosäureanalyse besteht, war es das Bestreben ihrer Bearbeiter spezifische und einfach auszuführende Farbreaktionen für die einzelnen Komponenten aufzufinden. Deshalb stammen die meisten, auch heute noch, oft in modifizierter, verbesserter Form angewandten colorimetrischen Bestimmungsmethoden aus einer Zeit, die vor den Zeitraum dieses Überblicks fällt. Sie sind in den einschlägigen Werken (*42*), (*126*), (*173*), (*235*) ausführlich beschrieben und werden hier nur angeführt, wenn seit 1938 wesentliche Verbesserungen ausgearbeitet worden sind. Nur wenige neue sind dazugekommen. Die meisten klassischen sind an die Verwendung von lichtelektrischen Colorimetern oder Spektrophotometern angepaßt worden. Die Konzentration von Verbindungen mit ausgeprägtem Absorptionsmaximum im Ultravioletten läßt sich in diesem Wellenbereich photoelektrisch feststellen, die Infrarotspektroskopie ist auf dem Weg, sich auch hier Bedeutung zu verschaffen.

In manchen Fällen führen chemische Abbaureaktionen zu Produkten, deren analytische Erfassung nach einfach verlaufender Abtrennung bequem, oft colorimetrisch auszuführen ist. Solche Reaktionen umfassen mitunter spezielle Gruppen von Aminosäuren. Schließlich sind noch einige Titrationsmethoden ausgearbeitet worden, die die Bestimmung einzelner Individuen oder Gruppen gestatten.

341. Colorimetrische Methoden.

Arginin. Die SAKAGUCHIsche Reaktion (α-Naphthol, Hypochlorit und Lauge), die zu einer roten Färbung führt, quantitativ gestaltet von WEBER 1930 durch Ersatz des Hypochlorits durch Hypobromit

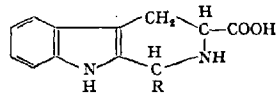
und Vernichten des Überschusses mit Harnstoff, wurde von DUBNOFF (*79*) dadurch verfeinert, daß er die Basen zuerst an Permutit adsorbierte und dann mit 10%iger Kochsalzlösung eluierte. Die Messung der Farbstärke erfolgte spektrophotometrisch bei 525 mμ. Da bei größeren Einwaagen relativ zu wenig Aminosäure gefunden wird (verstärkte Beeinflussung der Farbstoffbildung durch die gleichzeitig höhere Konzentration an Störstoffen), bestimmen BRAND und KASSEL (*47*) den Arginingehalt in verschieden konzentrierten Lösungen des Proteinhydrolysats und erhalten durch Extrapolation auf die Proteinkonzentration Null höhere und mit Literaturdaten übereinstimmende Werte. Neuerdings wird wieder Hypochloritlösung (0,06 m) empfohlen, die ohne Eiskühlung eine stabile reproduzierbare Rotfärbung ergibt (*7*). Von Naturstoffen reagieren noch Methylguanidin und Glykocyamin, welches im Gegensatz zu Arginin und Methylguanidin nicht an Permutit adsorbiert und so abgetrennt werden kann [Glykocyaminbestimmung (*78*)]. Für Canavanin, das gleichfalls positiv reagiert, wurde von ARCHIBALD eine spezielle Farbreaktion angegeben, die darin besteht, daß man eine H_2O_2-oxydierte alkalische Lösung von Nitroprussid-Na zur Einwirkung bringt. Dabei entsteht mit der Gruppierung $H_2N-\overset{\overset{NH}{\|}}{C}-\underset{H}{N}-O-C$ eine quantitativ auswertbare Rotfärbung (*16*). Citrullin läßt sich nach dem gleichen Autor (*13*) mit Diacetylmonoxim (*87*) in schwefelsaurer-phosphorsaurer Lösung in einen rotgelben, im photoelektrischen Colorimeter bei 490 mμ meßbaren Farbstoff überführen. Amberlite IR 100 hat sich zur Entfernung von weniger basischen störenden Substanzen bewährt.

Histidin. Dieses wird am besten nach Kuppeln mit diazotierter Sulfanilsäure (PAULY 1904) colorimetriert. Die beste Modifikation scheint die von MACPHERSON zu sein, der in der Basenfraktion die Sulfanilsäure in Gegenwart des Histidins diazotiert und den Farbstoff mit 530 mμ Filter mißt (*70*). Kuppeln mit diazotiertem p-Chloranilin und Ausschütteln des Farbstoffs mit Butanol gestattet noch 6 γ Histidin je Kubikzentimeter quantitativ zu bestimmen (*84*). Auch die von KNOOP aufgefundene und von KAPELLER-ADLER zum quantitativen Gebrauch ausgearbeitete Bromierungsreaktion ist neuerdings wieder modifiziert worden (*153*).

Tryptophan. Aldehydreaktionen. Die älteste Farbreaktion auf eine Aminosäure, die von ADAMKIEWICZ 1874 aufgefunden wurde und die in einer Violettfärbung von essigsäurebehandelten Proteinen beim Versetzen mit konzentrierter Schwefelsäure besteht, von HOPKINS und COLE als Umsetzung des Tryptophans mit Glyoxylsäure erkannt, ist das Vorbild zu zahlreichen weiteren Farbreaktionen dieser Aminosäure mit verschiedenen Aldehyden geworden. Das gemeinsame Kennzeichen

ist: Kondensation mit einem Aldehyd unter der Wirkung einer starken Mineralsäure und Oxydation zu einem rot bis blauen Farbstoff. Meist ist das Oxydationsmittel in Spuren in der konzentrierten Schwefelsäure enthalten.

Die Natur des Farbstoffs bei Verwendung von Glyoxylsäure versuchten HARVEY, MILLER und ROBSON aufzuklären (*114*). Die Reaktion von Tryptophan mit Aldehyden führt bekanntlich zu 2.3.4.5-Tetrahydro-β-carbolin-4-carbonsäuren.



Bringt man die einfachste Verbindung dieser Art (R = H), das Kondensationsprodukt von Tryptophan mit Formaldehyd unter den Bedingungen der HOPKINS-COLE-Reaktion mit reiner Schwefelsäure zusammen, so tritt keine Farbreaktion auf. Eine solche erfolgt jedoch analog dem Farbenspiel bei der Aminosäure, wenn die Schwefelsäure eine Spur eines Oxydationsmittels (z. B. Ferrisalz) enthält. Die Konstitution des farbigen Oxydationsproduktes konnte nicht aufgeklärt werden.

WINKLER hat die quantitative Ausführung der HOPKINS-COLEschen Reaktion durch Zusatz von wenig Cu-Sulfat mehrfach empfindlicher gestaltet (*323*) und damit den Tryptophangehalt einiger intakter Proteine nach Lösen in Ameisensäure oder Natronlauge gemessen. Dieser Test wurde von SHAW und MACFARLANE (*231*) modifiziert, die die photoelektrische Messung des Farbstoffs empfehlen.

Das Absorptionsspektrum des blauen Farbstoffs aus Tryptophan und Glyoxylsäure zeigt drei Maxima (280, 370 und 570 mμ), die simultan zur spektrophotometrischen Bestimmung der Aminosäure auch in Peptid- oder Proteinbindung herangezogen werden (*54*).

EHRLICHs *Reagens* (p-Dimethylaminobenzaldehyd) ist ein weiterer Aldehyd, der in mineralsaurer Lösung mit Indolkörpern starke Färbungen ergibt. Darauf beruht eine Reihe weiterer Varianten: Die von RODHE (1905) aufgefundene Reaktion läßt sich am intakten Protein und freien Tryptophan empfindlicher machen, wenn man nach dem Zusammengeben der Reagenzien etwas Nitrit (*24*) oder Wasserstoffsuperoxyd (*250*) zusetzt. Dabei scheinen die in Proteinen gefundenen Werte deshalb immer etwas zu niedrig auszufallen, weil sich die Blaufärbung in dem als Vergleich verwendeten freien Tryptophanstandard schneller als in der Analysenprobe entwickelt, so daß man bei gleichzeitiger Ablesung zu Fehlschlüssen kommt. Diese lassen sich vermeiden, wenn man photoelektrisch (Filter 54) das Maximum der Farbstärke in beiden Proben abliest, das zu verschiedenen Zeitpunkten erreicht wird (*252*). Vorherige Inkubation des Proteins mit proteolytischen Fermenten ist empfehlenswert (*128*). Nach SPIES und CHAMBERS, die eine sehr genaue Untersuchung der Bedingungen der RODHE-Reaktion

durchgeführt haben, wird 13 n-Schwefelsäure für freies, 19 n für proteingebundenes Tryptophan mit Vorteil an Stelle von Salzsäure verwendet (*241*).

Oxytryptophan gibt die Aldehydreaktionen nicht, *Kynurenin* mit EHRLICHs Reagens nur Gelbfärbung, die jedoch bei H_2O_2-Zusatz in Violett übergeht. Colorimetrische Bestimmung mit Filter S 55 (*200*).

Andere Tryptophanreaktionen. Die Indicanreaktion von JOLLES (Thymol und Persulfat) kann auf Tryptophan, das als solches nur sehr schwach anspricht, übertragen werden, wenn man vorher mit Nitrit-Eisessig desaminiert hat. Die mit Persulfat und Thymol in Trichloressigsäure-HCl entstehende starke Rotfärbung kann dann bei 540 mμ gemessen werden (*3*).

Ebenfalls in ihrem Chemismus ungeklärt, aber recht spezifisch ist eine von NICOLS und ECKERT aufgefundene quantitativ verwertbare Reaktion, die darauf beruht, daß man den Indolkörper mit Nitrit in Salzsäure 30 Min. desaminiert und „diazotiert" (Nitrosamin am Indol-N?) und nach Zerstörung des Nitrits mit Sulfaminat an *N-(1-Naphthyl)-äthylendiaminsalz* zu einem roten Farbstoff kuppelt (*81*), (*198*). Im Vergleich zur Glyoxylsäuremethode und vor allem zur mikrobiologischen (s. später) werden dabei die niedrigsten Tryptophanwerte in 6 Plasmaprotein- und Caseinproben erhalten (*116*).

Weiterhin läßt sich nach ROTH auch die *Xanthoproteinreaktion* mit Salpeter-Schwefelsäure in der Hitze zur Bestimmung des freien und gebundenen Tryptophans in Pflanzen heranziehen, wobei alle farbigen Stoffe, auch das Produkt aus Tyrosin zerstört werden und eine klare gelbe Lösung zur Ablesung (Filter S 34) gelangt (*211*). Schließlich läßt sich die Aminosäure auch durch ihre reduzierende Wirkung auf das FOLINsche *Phenolreagens* (Phosphomolybdo-wolframsäure) an Hand der Blaufärbung oder mit MILLONs *Reagens* (Rotbraunfärbung, 430 mμ) bestimmen, was dann angebracht ist, wenn man es vorher vom Tyrosin durch Quecksilberfällung abgetrennt hat (LUGG) (*26*), (*166*). In der quecksilberhaltigen Mutterlauge bestimmt man dann gleichzeitig *Tyrosin* durch Zusatz von Nitrit, wobei sich eine rote Farbe (MILLONs Reagens) einstellt, die photometrisch bei 520 mμ colorimetriert wird (*41*).

Eine wenig beachtete, streng spezifische und empfindliche Farbreaktion auf *Tyrosin*, die von GERNGROSS und Mitarbeitern (*103*) aufgefunden wurde, besteht in der Einwirkung von *α-Nitroso-*(oder *Nitro-*)*β-naphthol* und konzentrierter Salpetersäure, wobei bis zu einer Verdünnung von 10^{-6} intensive Rotfärbung auftritt. Die Methode ist kürzlich wieder aufgegriffen worden (*256*).

Phenylalanin. Die KAPELLER-ADLERsche *Reaktion*, bei der die Aminosäure zu 3,4-Dinitrobenzoesäure nitriert wird, welche durch

Reduktion (Hydroxylamin, Ascorbinsäure) und Alkalisieren mit Ammoniak in einen blauen Farbstoff übergeht, ist in einigen Punkten verbessert worden. So entfernt man heute das störende Histidin an einer Permutitsäule (*5*) und Tryptophan, das man auch als störend erkannt hat, durch Fällung mit dem bekannten Quecksilberreagens (*50*). Eine neuartige Farbreaktion, die auf der Reduktion des nitrierten Phenylalanins bis zur Aminostufe beruht, haben HESS und SULLIVAN angegeben (*124*).

Dioxyphenylalanin, das wie viele andere Di- oder Triphenole mit Nitrit in alkalischer Lösung eine Rotfärbung gibt, kann an Hand von dieser bestimmt werden. Zur Stabilisierung gibt man Molybdat zu (*18*).

Dijodtyrosin und *Thyroxin* werden bei Butanolextraktion aus saurer Lösung in die alkoholische Phase aufgenommen, deren Jodgehalt nach alkalischem Waschen bestimmt, ein Maß für die Aminosäuren darstellt (*35*), (*155*).

Direkte Bestimmung der aromatischen Aminosäuren durch Ultraviolettspektrometrie (*127*). Da Tyrosin und Tryptophan, auch im Proteinverband in alkalischer Lösung verschieden gelagerte Absorptionsmaxima im Ultraviolett haben, lassen sich beide bestimmen, wenn man die Extinktionskoeffizienten (E) bei 2 Wellenlängen mißt. Aus den an den reinen Aminosäuren gewonnenen Daten ergibt sich in einem Protein die molare Konzentration an Tyrosin zu

$$M_{Ty} = 1{,}0\, E_{305} - 0{,}092\, E_{280},$$

die des Tryptophans

$$M_{Tr} = 0{,}21\, E_{280} - 0{,}288\, E_{305}.$$

Das charakteristische Spektrum von Phenylalanin wird durch Tyrosin und Tryptophan verwischt, so daß es nur in Abwesenheit der beiden quantitativ ausgewertet werden kann.

Leucin-Isoleucin. Bei diesem schwierig zu trennenden Paar wurde zum ersten Male das Hilfsmittel der *Infrarotspektroskopie* auf ein aminosäureanalytisches Problem angewendet. Die Infrarotspektren der beiden Aminosäuren und ihre Acetylderivate zeigen deutliche Unterschiede. In der Nähe von 700 cm^{-1} treten bei den Acetylaminosäuren, die als Gemisch bei der Verteilungschromatographie erhalten werden, besonders charakteristische, voneinander verschiedene Banden auf, deren Höhe quantitativ verglichen werden kann. Durch Aufnahme von Gemischen bekannten Verhältnisses läßt sich eine Eichreihe herstellen, mit der die unbekannte Mischung aus dem Hydrolysat verglichen und in ihrer Zusammensetzung bestimmt wird (*72*).

Cystein und Cystin. Die Reaktionsfreudigkeit der SH-Gruppe des Cysteins gibt sich in einer Reihe von Farbreaktionen zu erkennen, die

als mehr oder weniger spezifische quantitative Bestimmungsweisen herangezogen werden. Bei allen Cystinbestimmungen führt man zunächst entweder die Hälfte der Molekel (Einwirkung von Cyanid: R—S—S—R + KCN → RSK + NCSR oder Sulfit: R—S—S—R + Na_2SO_3 → RSNa + NaO_3SSR) oder beide Teile (Na-Amalgam, Zinkstaub-Säure, H_2S u. a.) in Cystein über, welches dann bestimmt wird. Die Analyse vor und nach diesem Schritt liefert die Werte für beide Oxydationsstufen. Die älteste, FOLINsche *Methode*, bei der Phospho-18-Wolframat zu einem blauen Oxyd reduziert, dessen Farbe photometriert oder colorimetriert wird, scheint an der Störung durch fremde Reduktionsmittel zu leiden. Eine genaue Bestimmungsmöglichkeit dieser Extrareduktion ist vor kurzem angegeben worden (*321*).

Die *Methode von* SULLIVAN besteht in der Auswertung der Rotfärbung, die Cystein und einige seiner Peptide mit 1,2-Naphthochinon-4-sulfonat in alkalischer, reduzierender Lösung gibt (Sulfit, Dithionit). In der letzten Modifikation wird vom Autor eine genaue Vorschrift zur Bestimmung von Cystein neben Cystin angegeben (*251*).

Neueren Datums ist eine Methode von TOYODA (*272*) und FUJITA und NUMATA (*100*) von *Vassel* aufgegriffen und etwas vereinfacht (*291*), die auf der Kondensation von Cystein mit p-Aminodimethylanilin und gleichzeitiger Oxydation mit Ferrisalz zu einem blauen Farbstoff (vielleicht Benzothiazoniumderivat) beruht [FLEMING (*90*)], dessen Konzentration photometriert wird.

Eine weitere quantitative Farbreaktion auf Cystein besteht nach NAKAMURA und BINKLEY (*191*) in der Einwirkung eines Alkaloids, z. B. Brucin und Persulfat in stark saurer glycinhaltiger Lösung auf die Aminosäure. Dabei entsteht bei 30° ein blauer Farbstoff, der bei 660 mμ spektrophotometriert wird. Diese Reaktion soll sehr spezifisch sein, da keines der untersuchten Peptide oder Derivate positiv reagiert.

Methionin. Qualitative Farbreaktion. Mit Cu^{++} in stark mineralsaurer Lösung gibt Methionin als einzige eine goldbraune (Komplex-) Verbindung (*144*), (*239*).

Quantitative Bestimmung. MCCARTHY und SULLIVAN fanden, daß die bei alkalischer Einwirkung von Nitroprussidnatrium und anschließendem Ansäuern entstehende Rotfärbung der Methioninkonzentration proportional ist und mit Filter 54 gemessen werden kann. Eine von Histidin verursachte Färbung wird durch Glycinzusatz unterdrückt, die vom Tryptophan herrührende kann durch Butanol extrahiert werden (*177*). Zur Analyse des Methionins in Nahrungsproteinen mußte die Methode etwas abgeändert werden (*129*).

Lanthionin soll beim Kochen mit Jodwasserstoffsäure 1 Mol Cystein geben, das colorimetrisch bestimmt werden kann (*123*). SCHÖBERL

fand jedoch, daß beim 6stündigen Kochen von Lanthionin mit konzentrierter Jodwasserstoffsäure nur 5% in Cystein übergegangen waren (*219*) und auch von anderer Seite konnte unter den angegebenen Bedingungen kein Cystein nachgewiesen werden (*160*).

Cystin und das bei Jodwasserstoffhydrolyse aus Methionin hervorgehende Homocystin können auch polarographisch als Co-Komplexe bestimmt werden (*247*), (*248*).

342. Analysen durch chemischen Abbau.

Der Abbau durch Oxydationsmittel liefert aus einigen Aminosäuren teils flüchtige, teils charakteristische, leicht bestimmbare Produkte, auf deren Grundlage einige spezifische Methoden ausgearbeitet worden sind. Diejenigen Arbeitsweisen, bei denen man durch Permanganatoxydation nach Überführung der Aminosäuren durch Nitrit in Oxysäuren den Anschluß an die analytische Chemie dieser Verbindungen zu gewinnen versuchte, scheinen nicht sehr befriedigend zu sein. Günstiger verhält es sich mit spezifischeren Oxydationsmitteln, wie Ninhydrin, Chloramin T und Perjodsäure.

Mit *Ninhydrin* entsteht aus *Glycin Formaldehyd*, den man nach Abdestillieren aus saurer Lösung heute am besten colorimetrisch nach Reaktion mit Chromotropsäure (1,8-Dioxynaphthalin-3,6-disulfosäure) bei etwa 570 mμ bestimmt, z. B. (*9*), (*169*).

Alanin liefert mit demselben Reagens *Acetaldehyd*. Diesen kann man z. B. mit Luft in Bisulfitlösung blasen und darin mit Kupfersulfat, konzentrierter Schwefelsäure und p-Oxybiphenyl eine violette Färbung erzeugen, die bei 540 mμ photometriert wird (*8*). Bei p_H 5,6 gibt Asparaginsäure kaum Acetaldehyd, die aus den höheren Aminosäuren entstehenden homologen Aldehyde stören in gewissem Umfang. Nach VIRTANEN (*296*), (*297*) lassen sie sich fraktioniert übertreiben. Die chromatographische Trennung ihrer Dinitrophenylhydrazone ist auf S. 250 beschrieben.

Glutaminsäure gibt mit Ninhydrin *β-Formylpropionsäure*, deren Dinitrophenylhydrazon in alkalischem Puffer mit rotbrauner Farbe löslich und bei 420 mμ bestimmbar ist (*207*). Asparaginsäure, die stört, kann vorher aus dem Adsorbat an saurem Aluminiumoxyd mit 0,5 n-Essigsäure ausgewaschen werden (*310*).

Chloramin T (N-Chlor-p-toluolsulfamid-Na) wirkt auf Aminosäuren in ähnlicher Weise wie Ninhydrin ein. Mit diesem Oxydationsmittel verwandelte COHEN Glutaminsäure quantitativ ins Halbnitril der Bernsteinsäure, das mit Salzsäure zur Dicarbonsäure verseift wurde. Mit Succinodehydrase wurde aus der Sauerstoffzehrung die Konzentration an der Dicarbonsäure bestimmt (*61*). Asparaginsäure gibt mit

demselben Oxydationsmittel 2 Mole CO_2, so daß ihre Bildung am manometrisch bestimmbaren CO_2-Zuwachs in Umaminierungsansätzen gemessen werden konnte (*62*).

Perjodsäure, von MALAPRADE als spezifisches Oxydans von α-Glykolen eingeführt, erwies sich durch NICOLET und SHINN als ausgezeichnetes Reagens für Verbindungen vom Typ $R \cdot CH(OH) \cdot CH(NH_2) \cdot R'$, die zu zwei Aldehyden und Ammoniak aufgespalten werden (*194*). Danach gibt *Serin* neben Glyxoxylsäure 1 Mol *Formaldehyd*, *Threonin*, *Acetaldehyd* und *Oxylysin* (dessen Konstitution immer noch nicht gesichert ist) ebenfalls *Formaldehyd*. Die Autoren der Methode bestimmen die beiden erstgenannten Aminosäuren mit Perjodat in neutraler oder bicarbonatalkalischer Lösung, indem sie den Acetaldehyd durch Durchlüften in eine Vorlage mit Bisulfit treiben, worin er jodometrisch titriert wird (*223*). Der in Gegenwart der anderen Aminosäuren nicht flüchtige Formaldehyd wurde mit Dimedon (Dimethyl-dihydroresorcin) gefällt und gravimetrisch bestimmt (*195*). Natürlich können die Aldehyde auch durch spezifische Farbreaktionen colorimetrisch bestimmt werden (*46*), zumal die quantitative Fällung des Formaldehyds mit Dimedon auf Schwierigkeiten zu stoßen scheint (*171*). Auch Mikrodiffusion des Acetaldehyds ist für winzige Mengen empfohlen worden (*322*).

Die quantitative Erfassung des bei der Reaktion entstehenden Ammoniaks wurde zum Zweck der Oxylysinbestimmung von der VAN SYKEschen Schule ausgearbeitet, wobei man von der manometrischen Messung des Stickstoffs nach Hypobromiteinwirkung Gebrauch machte (*289*). Da die Ammoniakmenge der Summe der bestimmbaren Aldehyde äquivalent sein muß, hat man hier eine bequeme Probe auf die Richtigkeit der ermittelten Oxyaminosäurewerte. *β-Oxyglutaminsäure* gibt mit Perjodat ohne flüchtigen Aldehyd Ammoniak, von dem aber in Caseinhydrolysaten kein Überschuß festgestellt werden konnte. Damit dürfte die Behauptung von der Existenz dieser Aminosäure ad absurdum geführt sein (*196*) (vgl. auch S. 228). Die aus Oxyprolin mit Perjodat entstehende Menge an Formaldehyd ist bei der normalerweise gebrauchten Reaktionsdauer so klein, daß sie die Serinbestimmung nicht stört (*56*).

Bleitetraacetat macht in gleicher Weise aus Threonin Acetaldehyd frei, der nach Abblasen in der Vorlage mit p-Oxybiphenyl colorimetrisch bestimmt wurde (*38*).

Nicht oxydative Reaktionen dienen als Grundlage zur Bestimmung von *Glutaminsäure*, *Glutamin* und *Asparaginsäure:* Eine Methode zur Bestimmung von *Glutaminsäure* beruht auf ihrer Überführung in Pyrrolidoncarbonsäure durch mehrstündiges Erhitzen auf 125° C bei p_H 3,3 (Ausbeute 92%) und Messung der Abnahme des α-Aminostickstoffs (*199*). *Glutamin* geht schon bei p_H 7 in einer Stunde bei

100° C zu 99% in dasselbe cyclische Produkt über. Die mit der Ninhydrin-CO_2-Methode (S. 221) gemessene Abnahme an α-Amino-N ist ein Maß für seine Menge (*112*), (*193*).

Asparaginsäure geht, wie andere Aminosäuren, beim Behandeln mit Dimethylsulfat und Alkali (1,5 Stunden) glatt in das Betain über, das mit konzentrierter Schwefelsäure ein Gemisch von 20% Maleinsäure und 80% Fumarsäure liefert. Die ungesättigten Säuren, die sich nur aus Asparaginsäure bilden, werden dann z. B. polarographisch bestimmt (*302*). Beim Schmelzen mit Na-hydroxyd gibt *Methionin Methylmercaptan,* das in eine Isatinlösung übergetrieben und als grünes Reaktionsprodukt colorimetrisch bestimmt werden kann (TUTIYA) (*282*).

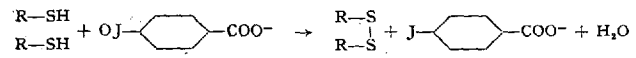
343. Titrationsmethoden.

Durch acidimetrische Titration (am besten elektrometrisch) lassen sich in einem durch Amberlite-adsorption abgetrennten *Glutaminsäure-Asparaginsäure*-Gemisch die gesamten COOH-Gruppen bestimmen. Eine in der Parallelprobe durchgeführte Formoltitration erfaßt nur die α-Aminocarboxylgruppen und eine Ninhydrin-CO_2-Bestimmung macht aus Asparaginsäure 2 Mole CO_2 frei. Aus diesen Daten läßt sich die Zusammensetzung des Gemisches exakt angeben (*141*).

TOENNIES und Mitarbeiter haben den Fortgang der *Acetylierung* von *Aminosäuren* mit Essigsäureanhydrid in Eisessig verfolgt (*145*), indem sie nicht in Reaktion getretene NH_2-Gruppen mit Perchlorsäure titrierten (*262*). Dabei wurde die Beobachtung gemacht, daß in Gegenwart der starken Perchlorsäure die Acetylierung von NH_2-Gruppen unterbleibt, während jetzt die OH-Gruppen von Serin, Threonin, Oxyprolin und Tyrosin glatt acetyliert werden (*214*). Darauf beruht eine titrimetrische Bestimmungsmethode von Oxygruppen in Aminosäuren, die so ausgeführt wird, daß man in perchlorsaurem Eisessig mit überschüssigem Essigsäureanhydrid die OH-Gruppen reagieren läßt und nach einiger Zeit eine gemessene Menge Anthranilsäure (Überschuß) zugibt. Diese bindet im nunmehr „basischen" Milieu, das nicht zur O-Acetylierung verbrauchte Anhydrid rasch als N-Acetyl; die verschwundenen NH_2-Gruppen und damit die Anhydridmenge werden schließlich durch Titration mit Perchlorsäure gemessen. Indicator: Krystallviolett. Außer den OH-Gruppen wird weiterhin die Iminogruppe des Tryptophans und Arginins, sowie die SH-Gruppe des Cysteins acetyliert. Cystin reduziert Perchlorsäure unter den angewandten Bedingungen (*266*).

Jodometrische Titrationen bewähren sich bei den *schwefelhaltigen* Aminosäuren. Nach KUHN und Mitarbeitern verläuft in Essigsäure von mehr als 70% die Dehydrierung von Sulfhydrylverbindungen zu Disulfiden mit Jod rasch und stöchiometrisch (*148*). Darauf beruht eine

titrimetrische Bestimmung des Cysteins in Jodwasserstoffhydrolysaten von Proteinen, aus denen das vom Methionin herrührende Methyljodid abdestilliert und für sich bestimmt wird (BAERNSTEIN), während Homocystein, das Desmethylierungsprodukt des Methionins als Thiolacton nicht mit Jod reagiert. Thiole können auch mit p-Jodosobenzoat nach



quantitativ umgesetzt werden. Die Rücktitration der unumgesetzten Jodosoverbindung erfolgt nach Reaktion mit Jodid in saurer Lösung, bei der nach:

$$RJO + 2\,J^- + 2\,H^+ \rightarrow RJ + J_2 + H_2O$$

Jod entsteht, das mit Thiosulfat titriert wird (*119*).

Nach LAVINE addiert Methionin bei p_H 7 in 1 m KJ-Lösung 1 Mol J_2. Der Überschuß wird mit Thiosulfat genau beseitigt, worauf beim Ansäuern das vom Methionin gebundene Jod frei und titrierbar wird (*154*).

$$J_2 + RSCH_3 \underset{\text{sauer}}{\overset{\text{neutral}}{\rightleftharpoons}} R{-}S{-}CH_3 \quad (J_2)$$

Methionin wird von H_2O_2 in perchlorsaurer Lösung, der etwas Molybdat zugesetzt ist, rasch ins Sulfon verwandelt (*265*) [H_2O_2 allein führt nur zum Sulfoxyd], worauf eine weitere jodometrische Methode durch Zurücktitrieren des H_2O_2-Überschusses gegeben ist (*264*). Diese ist etwas modifiziert erfolgreich auf Proteinhydrolysate und Urin angewendet worden (*6*).

35. Biologische Methoden.

Zur quantitativen Aminosäureanalyse kommen auch, und zwar in letzter Zeit in rascher erfolgreicher Entwicklung, Methoden zur Anwendung, die auf der Reaktion mit biologischem Material beruhen. In nicht sehr großem Ausmaß benützt man dabei Fermentpräparate, um so ausgedehnter aber ist die Anwendung von Mikroorganismen.

351. Biochemische Bestimmungsmethoden (17).

Bei der großen Spezifität von Fermenten, die Aminosäuren in definierter Weise verändern, verspricht die Anwendung biochemischer Bestimmungsmethoden Exaktheit und Einfachheit. Man benützt heute erst wenige, und zwar

Arginase. Dieses Enzym aus Leber, von JANSEN schon 1916 im Verein mit Urease angewendet, spaltet Arginin zu Ornithin und Harnstoff, den man früher mit Xanthydrol gravimetrisch bestimmt hat. Später haben HUNTER und DAUPHINÉE wieder Urease zugesetzt und das bei der Harnstoffspaltung entwickelte Ammoniak durch Titration bestimmt (*130*). Manometrische Messung der bei der Ureasewirkung

entwickelten Kohlensäure liefert genauere Werte (*139*). Man kann den Harnstoff auch mit α-Isonitroso-propiophenon colorimetrisch bestimmen (*14*). Dabei werden 1000fach geringere Argininmengen erfaßt. Arginase wird durch Lysin gehemmt, so daß die Inkubationszeit in Gegenwart dieser Base ziemlich lang ist. Durch Mn-Aktivierung wird sie wesentlich verkürzt (*17*). Canavanin, das jedoch in Proteinhydrolysaten nicht vorkommt, liefert langsam Harnstoff.

Histidase. Durch Rattenleberhistidase wird L-*Histidin* unter Bildung von 1 NH_3 und einem Produkt gespalten, das mit Lauge ein zweites Äquivalent NH_3 abgibt. Durch alkalische Destillation des Fermentansatzes gewinnt man 90% von $^2/_3$ des Histidin-N (*84*).

Decarboxylasemethoden [vgl. (*303*)]. *Arginin, Lysin, Ornithin, Histidin, Tyrosin, Phenylalanin* und *Glutaminsäure* (alle in der L-Form) werden durch bestimmte Mikroorganismen (meist Fäulniserreger), die auf saurem Medium gewachsen sind, vermittels spezifischer Fermente decarboxyliert. Einige dieser Fermente werden durch Pyridoxalphosphat (Co-decarboxylase) aktiviert (*110*). Nicht alle untersuchten Bakterien enthalten sämtliche Decarboxylasen; man kennt einige, die nur *ein* spezifisches Ferment enthalten. Solche Bakterien eignen sich zur Darstellung von Trockenfermentpräparaten zur manometrischen Bestimmung des CO_2 aus den entsprechenden Aminosäuren. So isolierten GALE und EPPS aus *Bacterium cadaveris* eine spezifische L-*Lysin-decarboxylase* (*101*), mit der Lysin quantitativ decarboxyliert wird. ZITTLE und ELDRED fanden im *Bacterium cadaveris* Stamm 6578 einen Mikroorganismus, der *nur* diese Decarboxylase enthält und als Acetontrockenpräparat zur Lysinbestimmung herangezogen werden kann (*332*). GALE hat mit Decarboxylasen L-Lysin, L-Histidin, L-Tyrosin, L-Glutaminsäure und L-Ornithin in den sauren Hydrolysaten von 10 Proteinen im WABBURG-Manometer bestimmt (*102*). Soweit man es bis jetzt beurteilen kann, sind die Decarboxylasemethoden spezifisch, einfach, schnell und genau.

Das wichtige Halbamid *Glutamin* kann mit einem Glutaminasepräparat aus Hundeleber rasch zu Glutaminsäure und Ammoniak hydrolysiert und auf Grund einer Mikroammoniakbestimmung colorimetrisch (NESSLER) bestimmt werden (*11*), (*12*).

D-*Aminosäureoxydasen* sind zur Bestimmung von D-Aminosäuren in Hydrolysaten normaler und maligner Gewebe (*162*), in Gramicidin- und Tyrocidin (*163*), sowie zum Nachweis der enzymatischen Abspaltung kleiner D-Leucinmengen aus D-Leucylglycylglycin (*122*) benützt worden. Neuerdings verwendete man eine D-Aminosäureoxydaselösung, um auf Papierchromatogrammen die Konfiguration von Spaltstücken des Antibioticums Aerosporin zu bestimmen: Diejenigen ninhydrinpositiven

Flecken, die nach der Fermenteinwirkung verschwunden waren, stammten von D-Aminosäuren (*134a*).

Von den beschriebenen L-Aminosäureoxydasen ist bisher keine zu analytischen Zwecken angewendet worden. Nach eigenen Versuchen wird man die aus Leber leicht zu gewinnende L-Glutaminsäuredehydrase (*86*) zur spezifischen Bestimmung dieser Aminosäure heranziehen können, wenn man z. B. bei 334 mμ die Bildung von Dihydrocodehydrase aus Codehydrase verfolgt, deren Geschwindigkeit von der L-Glutaminsäuremenge abhängig ist.

Die manometrische Bestimmung von Glutaminsäure als Bernsteinsäure ist schon auf S. 267 beschrieben.

352. Mikrobiologische Analysenmethoden (23), (236), (237).

Als die intensive Erforschung des Vitamin B-Komplexes und das Studium der Wuchsstoffe von Mikroorganismen zu der Erkenntnis führten, daß die vom höheren Warmblüter benötigten B-Vitamine zugleich für das Wachstum von einzelligen Lebewesen notwendig sind, wandte man sich der eingehenden Untersuchung der Ernährungsbedingungen von Bakterien und niederen Pilzen zu. Dabei stellte sich heraus, daß auch im Aminosäurebedarf Mikroorganismus und Säugetier darin übereinstimmen, daß es eine Reihe von Aminosäuren gibt, die von der Zelle selbst produziert werden (entbehrliche) und solche, auf deren Zufuhr der Organismus angewiesen ist (unentbehrliche).

Läßt man eine solche Aminosäure aus der Nährlösung des Bacteriums weg, so tritt keine Zellvermehrung ein, Zusatz der Aminosäure führt zu einer Vermehrung, die im Mangelgebiet etwa der Aminosäurekonzentration proportional ist[1]. Neben entbehrlichen und unentbehrlichen Bausteinen gibt es für die meisten Bakterien noch einige (fördernde) Aminosäuren, bei deren Fehlen kärglicheres Wachstum eintritt (Tabelle 8).

Tabelle 8. *Wirkung von förderlichen Aminosäuren auf das Wachstum von Lactobacillus helveticus (130).*

	cm³ 0,1 n Säure je cm³ Medium
Basalmedium	3,2
Basalmedium + Threonin	6,3
Basalmedium + Threonin + Methionin	7,4
Basalmedium + Threonin, Methionin, Histidin, Lysin, Alanin, Glycin, Prolin, Oxyprolin, Isoleucin	10,8
Basalmedium + Caseinhydrolysat	10,9

[1] Diese Beobachtung hat MÖLLER im Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, schon 1940 ausgenützt, um das bei der Hydrolyse von Rohpantothensäure aus Thunfischleber freiwerdende L-Leucin (*149*) mit Streptobact. plant. 10 S quantitativ zu bestimmen (*183*). Leider wurde damals die weitere Ausarbeitung dieser Testmethodik durch den Krieg verhindert.

Das Basalmedium besteht aus Glucose, Na-Acetat, Adenin, Mineralsalzen, Vitaminen und den Aminosäuren Glutaminsäure, Asparaginsäure, Leucin, Valin, Serin, Tryptophan, Cystin, Arginin, Phenylalanin und Tyrosin.

Zur *quantitativen* Ermittlung des Bakterienwachstums kann man die Trübung *photoelektrisch* oder die produzierte Milchsäure *titrimetrisch* bestimmen. Bei den meisten mikrobiologischen Bestimmungen benützt man nämlich verschiedene Stämme von *Milchsäurebakterien*, die sich in ihrem Aminosäurebedarf voneinander wesentlich unterscheiden. Tabelle 9 gibt einen Vergleich des Bedarfs der hauptsächlich verwendeten Milchsäurebakterien.

Zur praktischen Ausführung des Testes läßt man aus einem optimal zusammengesetzten Basalmedium diejenige Aminosäure weg, deren Konzentration bestimmt werden soll, füllt diese Nährlösung in eine Reihe von Reagensgläsern, in welche man steigende Mengen der zu untersuchenden Lösung gibt, füllt auf gleiches Volumen auf (0,2—15 cm³), sterilisiert und beimpft. In der gleichen Weise hat man die Röhrchen mit einer Standardlösung derselben Aminosäure vorbereitet. Nach 60—70 Stunden Inkubation wird nun die Bakterienvermehrung gemessen. Ihre Abhängigkeit von der Aminosäurekonzentration soll eine möglichst steile, und auf ein möglichst langes Stück geradlinig verlaufende Kurve ergeben. Der Vergleich der Kurven von unbekannter und bekannter Konzentration ergibt die gesuchte Menge. Die Form der Wachstumskurven ist von Stamm zu Stamm verschieden und beim

Tabelle 9. *Aminosäurebedarf verschiedener Milchsäurebakterien (273).*

Mikroorganismus	Asparagin-säure	Glutamin-säure	Arginin	Histidin	Lysin	Alanin	Cystin	Glycin	Isoleucin	Leucin	Methionin	Phenyl-alanin	Prolin	Serin	Threonin	Tryptophan	Tyrosin	Valin
Lactobacillus arabinosus	±	+	+	±	+	±	+	±	+	+	±	±	±	+	±	+	±	+
Lactobacillus casei	+	+	+	±	+	±	+	±	+	+	±	±	±	+	±	+	±	+
Lactobacillus delbrückii	+	+	+	±	+	±	+	±	+	+	±	±	±	+	±	+	±	+
Streptococcus faecalis	+	+	+	±	+	±	±	±	+	+	±	±	±	+	±	+	±	+
Streptococcus lactis	(+)[1]	(+)[1]	+	±	+	±	±	±	+	+	±	±	±	+	±	+	±	+
Leuconostoc mesenteroides	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Norvalin, Norleucin und Oxyprolin sind für keinen aller untersuchten Mikroorganismen unentbehrlich. + = unentbehrlich, ± = förderlich, − = entbehrlich. [1] Asparagin und Glutamin sind für dieses Bacterium unentbehrlich.

selben Bacterium stark von der Zusammensetzung des Basalmediums abhängig (Abb. 10).

Darin ist *I* die Wachstumskurve von Lactobacillus arabinosus in einem Basalmedium, das aus Salzen, Wuchsstoffen, Caseinhydrolysat (tryptophanfrei) 1% Glucose und 0,6% Na-Acetat besteht (*109*), während Kurve *II* mit demselben Bacterium auf einem Nährboden erhalten wurde, der neben sonstiger Gleichheit 1,7% Glucose und 1,3% Na-Acetat (*327*) enthielt. Die Mangelaminosäure war L-Tryptophan.

Da die Wachstumskurven der unentbehrlichen Aminosäuren an ein und demselben Mikroorganismus nicht gleich günstig verlaufen, und andererseits dieselbe unentbehrliche Aminosäure das Wachstum verschiedener Mikroorganismen in verschiedener Weise beeinflußt, ist es nicht möglich, mehr als 8 Aminosäuren mit demselben Organismus exakt zu bestimmen. Man kann es deshalb als einen großen Fortschritt begrüßen, daß es in letzter Zeit SNELL und Mitarbeitern gelungen ist, ein Nährmedium zusammenzustellen, das für alle gebräuchlichen Mikroorganismen optimal ist und auf dem mit deren Hilfe 15 Aminosäuren bestimmt werden können (*120*). Diese sind: Glutaminsäure, Leucin, Phenylalanin, Valin und Tryptophan mit *Lactobacillus arabinosus*, Arginin, Histidin, Methionin und Threonin mit *Streptococcus faecalis*, Asparaginsäure, Histidin, Lysin, Prolin, Tyrosin, Isoleucin und Glycin mit *Leuconostoc. mesenteroides*. Bei Anwendung von *L. arabinosus* für Isoleucin wurden in Proteinhydrolysaten viel zu niedrige Werte erhalten. Die Zusammensetzung des Nährmediums zeigt Tabelle 10.

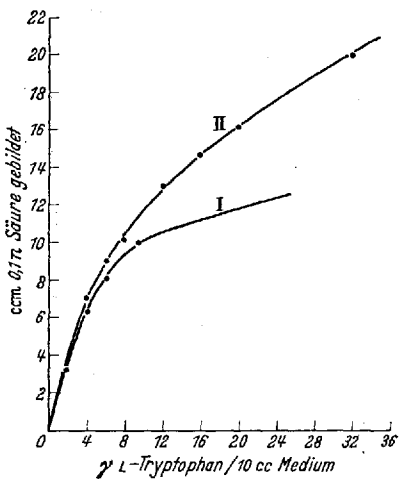


Abb. 10. L-Tryptophanstandardkurven mit Lactobacillus arabinosus.

Zur Bestimmung verdünnt man nach Weglassen der interessierenden Aminosäure 1,0 cm³ einer doppelt konzentrierten Lösung mit 1 cm³ Wasser, das die Analysensubstanz enthält. Die Feststellung des Titrationsendpunktes nach Beimpfen (Versetzen mit einem Tropfen einer sehr verdünnten Bakterienaufschwemmung) und Inkubation erfolgt elektrometrisch. Dieselbe Bestimmung kann auch in 0,2 cm³ Gesamtvolumen ausgeführt werden, so daß im Hydrolysat von *10—20 mg Protein 14 Aminosäuren quantitativ bestimmbar sind* [HENDERSON, BRICKSON und SNELL (*129*)].

Die Entwicklung dieser eleganten und genauen Analysenmethode ist hauptsächlich verknüpft mit den Namen: DUNN, HALE, HEGSTED, KUIKEN, LYMAN, NORMAN, SHANKMAN und SNELL in den Jahren 1943/44,

Tabelle 10.

Komponente	auf 100 cm³	Komponente	auf 100 cm³
Glucose	2,0 g	Ca-Pantothenat	100 γ
Na-Citrat	2,0 g	Nicotinsäureamid	100 γ
Na-Acetat (wasserfrei)	0,1 g	p-Aminobenzoesäure	20 γ
Ammonchlorid	0,3 g	Biotin	1 γ
Kaliumhydrogenphosphat	0,5 g	Folsäure	1 γ
Salzmischung (10 g $MgSO_4$ $7\,H_2O$, 0,5 g $FeSO_4$ $7\,H_2O$, 0,5 g NaCl, 2 g $MnSO_4$ $7\,H_2O$ in 250 cm³ Wasser	2 cm³	DL-Alanin	100 mg
		DL-Asparaginsäure	100 mg
		L-Glutaminsäure	100 mg
		L-Arginin HCl	20 mg
Adeninsulfat	1 mg	L-Lysin HCl H_2O	20 mg
Guaninhydrochlorid	1 mg	Histidin, Isoleucin, Leucin, Methionin, Phenylalanin, Prolin, Threonin, Tyrosin, Valin, Tryptophan, Cystin, Serin, Glycin als L-Form	10 mg
Uracil	1 mg		
Xanthin	1 mg		
Aneurin	100 γ		
Lactoflavin	100 γ		
Pyridoxal	20 γ	als DL-Form	20 mg

von wo ab jährlich neue Mikroorganismen als geeignet und neue Nährmedien als günstig erkannt wurden (*118*), (*152*), (*179*), (*229*), (*230*).

Außer zahlreichen Bakterienarten sind auch Leucin-less und Lysin-less, Mutanten des Pilzes Neurospora crassa (*209*) zur Leucin- (*213*) und Lysinbestimmung (*76*) herangezogen worden.

Antagonismen. Bei den mikrobiologischen Bestimmungen werden nur die L-Formen der Aminosäuren erfaßt, so daß teilweise Racemisierung zu Hydrolysaten führt, in denen an bestimmten Aminosäuren zu wenig gefunden wird. Eine wachstumshemmende Wirkung durch die D-Formen tritt erst bei mehrhundertfachem Überschuß über den Antipoden ein (*91*). Jedoch sind verschiedene Aminosäure-antagonismen beobachtet worden, die den mikrobiologischen Test stören: So hemmt *Threonin*, das durch *Serin* hervorgerufene Wachstum verschiedener Milchsäurebakterien und umgekehrt Serin die Threoninverwertung (*180*).

Canavanin wirkt antagonistisch zu *Arginin* (*297*) und *Leucin, Isoleucin, Valin* und *Methionin* beeinflussen sich in ähnlicher Weise (*49*). Lactobacillus arabinosus wird ferner in seiner *Glutaminsäure*-verwertung durch *Asparaginsäure*, weniger durch Asparagin, gehemmt. Dabei hat es den Anschein, als ob die Verwertung der Glutaminsäure über Glutamin verliefe, denn dieses Amid führt zu raschem Wachstum auf glutaminsäurefreien Nährböden, während bei Zusatz der Säure das Wachstum erst nach einer bestimmten Frist einsetzt (*167*). Asparaginsäure blockiert möglicherweise kompetitiv das Amidierungsferment. Das synthetische Sulfoxyd $\mathrm{HOOC{-}\underset{\displaystyle NH_2}{CH}{-}CH_2{-}CH_2{-}SO_2{-}CH_3}$ hemmt die Synthese von Glutamin in 0,01 m-Lösung ebenfalls, so daß bei seiner

Gegenwart Glutamin mit Streptokokken ohne Beeinflussung durch Glutaminsäure mikrobiologisch bestimmt werden kann (*210*).

Wuchsstoffe. Hat man aus diesen und ähnlichen Gründen unter Umständen eine zu geringe Bakterienvermehrung zu erwarten, so kann auf der anderen Seite die Zugabe unbekannter Wuchsstoffe mit der Analysenlösung zu erhöhtem Wachstum führen. Dieser Effekt ist bei Aminosäurebestimmungen in fermentativen Proteinhydrolysaten zu erwarten, nachdem WOOLLEY gezeigt hat, daß ein glutaminsäurehaltiges Peptid, Strepogenin, in Proteinen präformiert ist, das das Wachstum fördert (*242*). Außerdem rufen bei Lactobacillus casei ein alkoholischer Extrakt aus Molkenpulver und Glutathion zusätzliches Wachstum hervor (*228*)

Literatur.

1. ACKERMANN, W. W., and H. KIRBY: Evidence for the Natural Occurence of α-Amino-β,β-dimethyl-γ-hydroxybutyric Acid (Pantonine). J. biol. Chem **175**, 483 (1948).
2. ALBANESE, A. A.: An Electrolytic Method for the Determination of the Basic Amino Acids in Proteins. J. biol. Chem. **134**, 467 (1940).
3. —, and J. E. FRANKSTON: New Colour Test for Tryptophane in Protein Hydrolysates. J. biol. Chem. **144**, 563 (1942).
4. —, and V. IRBY: Determination of Urinary Amino Nitrogen by the Copper Method. J. biol. Chem. **153**, 583 (1944).
5. — Colorimetric Estimation of Phenylalanine in Some Biological Products. J. biol. Chem. **155**, 291 (1944).
6. — J. E. FRANKSTON and V. IRBY: The Estimation of Methionine in Protein Hydrolysates and Human Urine. J. biol. Chem. **156**, 293 (1944).
7. — — The Colorimetric Determination of Arginine in Protein Hydrolysates and Human Urine. J. biol. Chem. **159**, 185 (1945).
8. ALEXANDER, B., and A. M. SELIGMANN: A Colorimetric Method for the Microdetermination of α-Alanine in Blood. J. biol. Chem. **159**, 9 (1945).
9. —, G. LANDWEHR and A. M. SELIGMANN: A Specific Micromethod for the Colorimetric Determination of Glycine in Blood and Urine. J. biol. Chem. **160**, 51 (1945).
10. APPLEZWEIG, N.: Ion Exchange Adsorbents as Laboratory Tools. Annals New York Acad. Sci. **49**, 295 (1948).
11. ARCHIBALD, R. M.: The Enzymatic Determination of Glutamine. J. biol. Chem. **154**, 643 (1944).
12. — Preparation and Assay of Glutaminase for Glutamine Determinations. J. biol. Chem. **154**, 657 (1944).
13. — Determination of Citrulline and Allantoin and Demonstration of Citrullin in Blood Plasma. J. biol. Chem. **156**, 121 (1944).
14. — Colorimetric Determination of Urea. J. biol. Chem. **157**, 507 (1945).
15. — Note on the Reported Formation of Urea from Glutamine by Liver Extracts, and on the Preparation of Glutamine free from Arginine. J. biol. Chem. **159**, 693 (1945).
16. — Colorimetric Determination of Canavanine. J. biol. Chem. **165**, 169 (1946).
17. — Enzymatic Methods in Amino Acid Analysis. Annals New York Acad. Sci. **47**, 181 (1946).

18. ARNOW, L. E.: Colorimetric Determination of the Components of 3,4-Dihydroxyphenylalanine-Tyrosine Mixtures. J. biol. Chem. **118**, 499 (1939).
19. BAERNSTEIN, H. J.: The Determination of Methionine in Proteins. J. biol. Chem. **97**, 663 (1932).
20. BAILEY, K., A. C. CHIBNALL, M. W. REES and E. F. WILLIAMS: Critique of the Foreman Method for the Estimation of the Dicarboxylic Acids in Protein Hydrolysates. Biochem. J. **37**, 360 (1943).
21. BAPTIST, N. G., and W. ROBSON: The Salting out of Amino Acids from Protein Hydrolysates: A Method for the Isolation of l-Phenylalanine. Biochem. J. **34**, 221 (1940).
22. BARNETT, H. M.: Studies on Leucine and Dileucine Hydrochloride and a New Method for the Isolation of Leucine. J. biol. Chem. **100**, 543 (1933).
23. BARTON-WRIGHT, E. C.: Practical Methods for the Microbiological Assay of the Vitamin B Complex and Essential Amino Acids. Ashe Laboratories Ltd. 1946.
24. BATES, R. W.: Rapid Method for the Quantitative Determination of Tryptophan. J. biol. Chem. **119**. — Proc. Amer. Soc. Biol. Chem. VII (1937).
25. BEACH, E. F., and D. M. TEAGUE: A Gravimetric Method for the Determination of Methionine. J. biol. Chem. **142**, 277 (1942).
26. —, B. MUNKS and A. ROBINSON: The Amino Acid Composition of Animal Tissue Proteins. J. biol. Chem. **148**, 431 (1943).
27. BERGMANN, M., and S. W. FOX: Complex Salts of Amino Acids and Peptides. I. Metal Complex Salts of Glycine and their Specifity. J. biol. Chem. **109**, 317 (1935).
28. — Complex Salts of Amino Acids and Peptides. II. Determination of l-Proline with the Aid of Rhodanilic Acid. The Structure of Gelatin. J. biol. Chem. **110**, 471 (1935).
29. —, and C. NIEMANN: On the Proteolytic Enzymes. XIV. On the General Nature of the Enzymatic Degradation of Proteins. J. biol. Chem. **118**, 781 (1937).
30. — Complex Salts of Amino Acids and Peptides. III. Salts of Dioxalatodipyridinochromiato Acid (Dioxpyridic Acid) and Dioxalato-dianilinochromiato Acid (Dioxanilic Acid). J. biol. Chem. **122**, 569 (1937/38).
31. —, and W. H. STEIN: A New Principle for the Determination of Amino Acids and its Application to Collagen and Gelatin. J. biol. Chem. **128**, 217 (1939).
32. — — Naphthalene Sulfonic Acid as a Reagent for Amino Acids. J. biol. Chem. **129**, 609 (1939).
33. BEVERIDGE, J. M. R., and C. C. LUCAS: The Analysis of Hair Keratin. The Dicarboxylic and Basic Amino Acids of Human Hair. Biochem. J. **38**, 88 (1944).
34. — — The Analysis of Hair Keratin. 4. A Note on the Occurence of Serine in Human Hair. Biochem. J. **38**, 411 (1944).
35. BLASS, J., et M. MACHEBOEUF: Sur la présence d'aminoacides nouveaux dans les vibrions cholériques: Acide aminoadipique et acide hydroxyaminoadipique. Helv. chim. Acta **29**, 1315 (1946).
36. BLAU, N. F.: The Determination of Thyroxine in Thyreoid Substance. J. biol. Chem. **110**, 351 (1935).
37. BLOCK, R. J.: The Determination of the Basic Amino Acids in Small Quantities of Proteins by the Silver Precipitation Method. J. biol. Chem. **106**, 457 (1934).

38. BLOCK, R. J., and D. BOLLING: The Micro Estimation of Threonine. J. biol. Chem. **130**, 365 (1939).
39. — The Estimation of Histidine. J. biol. Chem. **133**, 67 (1940).
40. — A New Method for the Separation of the Basic Amino Acids from Protein Hydrolysates. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **51**, 252 (1942).
41. — A New Method for the Preparation of Basic Amino Acid Concentrates from Protein Hydrolysates. Arch. Biochem. **11**, 235 (1946).
42. —, and D. BOLLING: The Amino Acid Composition of Proteins and Foods. Springfield (Ill.): Thomas Publishers 1947.
43. — Quantitative Estimation of Amino Acids on Paper Chromatograms. Science **108**, 608 (1948).
44. BORSOOK, H.: Micromethods for Determination of Ammonia, Urea, Total Nitrogen, Uric Acid, Creatinine (and Creatine) and Allantoin. J. biol. Chem. **110**, 481 (1935).
45. —, and J. W. DUBNOFF: Methods for the Determination of Submicro Quantities of Total Nitrogen, Ammonia, Amino Nitrogen, Amides, Peptides Adenylic Acid and Nitrates. J. biol. Chem. **131**, 163 (1939).
46. BOYD, M. J., and M. A. LOGAN: Colorimetric Determination of Serine. J. biol. Chem. **146**, 279 (1942).
47. BRAND, E., and B. KASSEL: Photometric Determination of Arginine. J. biol. Chem. **145**, 359 (1942).
48. BRAZIER, M. A. B.: A New Method for the Separation of the Products of Protein Hydrolysis. Biochem. J. **24**, 1187 (1930).
49. BRICKSON, W. L., L. M. HENDERSON, J. SOLHJELL u. C. A. ELVEHJEM: Antagonism of Amino Acids in the Growth of Lactic Acid Bacteria. J. biol. Chem. **176**, 517 (1948).
50. BROWN, W. L.: The Determination of Phenylalanine in Proteins. J. biol. Chem. **155**, 277 (1944).
51. BULL, H. B., J. W. HAHN and V. H. BAPTIST: Filter Paper Chromatography. J. Amer. chem. Soc. **71**, 550 (1949).
51a. BUTLER, J. A. V., and J. M. L. STEPHEN: Apparatus for Preparative Elektrophoresis. Nature **160**, 469 (1947).
52. CANNAN, R. R.: The Estimation of the Dicarboxylic Amino Acids in Protein Hydrolysates. J. biol. Chem. **152**, 401 (1944).
53. — Chromatographic and Ion Exchange Methods of Amino Acid Analysis. Annals New York Acad. Sci. **47**, 135 (1946).
54. CARPENTER, D. C.: Spectrophotometric Estimation of Tryptophan. Analyt. Chem. **20**, 536 (1948).
55. CARTER, H. E., and S. R. DICKMAN: Anomalous Amino Nitrogen Values. J. biol. Chem. **149**, 571 (1943).
56. —, and Y. H. LOO: Oxidation of Hydroxy-L-proline by Periodate. J. biol. Chem. **174**, 723 (1948).
57. CATCH, J. R., and T. S. G. JONES: The Chemical Nature of Aerosporin. II Isolation of a New Natural Amino Acid. Biochem. J. **42**, Proc. LII (1948).
58. CHIBNALL, A. C., M. W. REES, and E. F. WILLIAMS: The Dicarboxylic and Basic Amino Acids of Edestin, Egg Albumin and β-Lactoglobulin. Biochem. J. **37**, 372 (1943).
59. CHRISTENSEN, B. E., E. S. WEST and K. P. DIMICK: A Simple Apparatus and Procedure for Determination of Amino Acids by the Ninhydrin Reaction. J. biol. Chem. **137**, 735 (1941).
60. CLEAVER, CH. C., R. A. HARDY and H. G. CASSIDY: Chromatographic Adsorption of Amino Acids on Organic Exchange Resins. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1343 (1945).

61. COHEN, P. P.: Microdetermination of Glutamic Acid. Biochem. J. **33**, 551 (1939).
62. — Transamination with Purified Enzyme Preparations. J. biol. Chem. **136**, 565 (1940).
63. CONSDEN, R., A. H. GORDON and J. P. MARTIN: A Partition Chromatographic Method Using Paper. Biochem. J. **38**, 224 (1944).
64. — — — Ionophoresis in Silica Jelly. Biochem. J. **40**, 33 (1945).
65. — — — and R. L. M. SYNGE: Gramicidin S: The Sequence of the Amino Acid Residues. Biochem. J. **41**, 596 (1947).
66. — — — The Identification of Lower Peptides in Mixtures. Biochem. J. **41**, 590 (1947).
67. — — — Separation of Acidic Amino Acids by Means of a Synthetic Anion Exchange Resin. Biochem. J. **42**, 443 (1948).
68. CONWAY, E. J., and A. BYRNE: An Absorption Apparatus for the Microdetermination of Certain Volatile Substances. I. The Microdetermination of Ammonia. Biochem. J. **27**, 419 (1933).
69. COX, G. J., and H. KING: l-Tryptophane. Organic Syntheses **10**, 100 (1930).
70. DAKIN, H. D.: On Amino Acids. Biochem. J. **12**, 290 (1918).
71. — The Formation of Betaine from Hydroxyamino Acids on Methylation. J. biol. Chem. **140**, 847 (1941).
72. DARMON, S. E., G. B. B. M. SUTHERLAND and G. R. TRISTRAM: The Estimation of the Leucine Isomers in Protein Hydrolysates by Infrared Analysis. Biochem. J. **42**, 508 (1948).
73. DEITZ, V. R.: The Surface Areas of Some Adsorbents of Possible Use in Chromatography. Annals New York Acad. Sci. **49**, 315 (1948).
74. DENT, C. E.: A Study of the Behaviour of Some Sixty Amino Acids and Other Ninhydrin-reacting Substances on Phenol-"Collidine" Filter Paper Chromatograms, with Notes as to the Occurence of Some of them in Biological Fluids. Biochem. J. **43**, 169 (1948).
75. DIEMAIR, W., u. H. NEU: Zur Kenntnis der Absorption von Aminosäuren. Z. analyt. Chem. **128**, 566 (1948).
76. DOERMANN, A H.: A Bioassay for Lysine by Use of a Mutant of Neurospora. J. biol. Chem. **160**, 95 (1945).
77. DOHERTY, D. G., W. H. STEIN and M. BERGMANN: Aromatic Sulfonic Acids as Reagents for Amino Acids. J. biol. Chem. **135**, 487 (1940).
78. DUBNOFF, J. W., and H. BORSOOK: A Micromethod for the Determination of Glycocyamine in Biological Fluids and Tissue extracts. J. biol. Chem. **138**, 381 (1941).
79. — A Micromethod for the Determination of Arginine. J. biol. Chem. **141**, 711 (1941).
80. DUNN, M. S., and A. LOSHAKOFF: Quantitative Investigations of Amino Acids and Peptides. I. Quantitative Formol Titration by Means of the Glass Electrode. J. biol. Chem. **113**, 359 (1936).
81. ECKERT, W. H.: A New Micro Colorimetric Method for the Determination of Tryptophane. J. biol. Chem. **148**, 205 (1943).
82. EDLBACHER, S., u. F. LITVAN: Eine neue Farbenreaktion auf Aminosäuren. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **265**, 241 (1940).
83. — — Notiz über die Mitteilung: Eine neue Farbenreaktion auf Aminosäuren. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **267**, 285 (1941).
84. — H. BAUR, H. R. STAEHELIN u. A. ZELLER: Die colorimetrische und enzymatische Bestimmung des Histidins. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **270**, 158 (1941).

84a. EHRLICH-GOMOLKA, H.: Zur präparativen Darstellung des l-Methionins. HOPPE-SEYLERS Z. physiol. Chem. **282**, 158 (1947).
85. ELSDEN, J. R., and R. L. M. SYNGE: Starch as a Medium for Partition Chromatography. Biochem. J. **38** Proc. IX (1944).
86. EULER, H. v., E. ADLER, G. GÜNTHER u. N. B. DAS: Über den enzymatischen Abbau und Aufbau der Glutaminsäure. II. In tierischen Geweben. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **254**, 61 (1938).
87. FEARON, W. R.: The Carbamid Diacetyl Reaction: A Test for Citrulline. Biochem. J. **33**, 902 (1933).
88. FISCHER, E., u. H. SCHRADER: Verbindungen von Chinon mit Aminosäureestern. Ber. dtsch. chem. Ges. **43**, 325 (1910).
89. FISHER, R. B., D. S. PARSONS and G. A. MORRISON: Quantitative Paper Chromatography. Nature **161**, 764 (1948).
90. FLEMING, R.: A Sensitive Reaction for Cysteine. Biochem. J. **24**, 965 (1930).
91. FLING, M., and S. W. FOX: Antipodal Specifity in the Inhibition of Growth of Lactobacillus arabinosus by Amino Acids. J. biol. Chem. **160**, 329 (1945).
92. FOLIN, O., and A. D. MARENZI: Tyrosine and Tryptophane Determination in one Tenth Gram of Protein. J. biol. Chem. **83**, 89 (1929).
93. FOREMAN, F. W.: Quantitative Estimation of Aspartic and Glutamic Acids in the Products of Protein Hydrolysis. Biochem. J. **8**, 463 (1914).
94. FOSTER, G. L., and C. L. A. SCHMIDT: The Separation of the Hexone Bases from Certain Protein Hydrolysates by Electrolysis. J. biol. Chem. **56**, 545 (1923).
95. —, and D. SHEMIN: l-Histidine Monohydrochloride. Organic Syntheses **18**, 43 (1938).
96. FRÄNKEL, S.: Darstellung und Konstitution des Histidins. Monatsh. **24**, 229 (1903).
97. FRAENKEL CONRAT, H.: Effect of Light in the VAN SLYKE Method for the Determination of Amino Groups. J. biol. Chem. **148**, 453 (1943).
98. FRAME, E. G., J. A. RUSSELL and A. E. WILHELMI: The Colorimetric Estimation of Amino Nitrogen in Blood. J. biol. Chem. **149**, 255 (1943).
99. FREUDENBERG, K., H. WALCH u. H. MOLTER: Die Trennung von Zuckern, Aminozuckern und Aminosäuren. Anwendung auf die Blutgruppensubstanz. Naturwiss. **30**, 87 (1942).
100. FUJITA, A., u. I. NUMATA: Über die colorimetrische Bestimmung von Cystein und Cystin. Biochem. Z. **300**, 264 (1930).
101. GALE, E. F., and H. M. R. EPPS: Studies on Bacterial Amino-acid Decarboxylases. 1. l(+)-Lysindecarboxylase. Biochem. J. **38**, 232 (1944).
102. — Studies on Bacterial Amino-acid Decarboxylases. 5. The Use of Specific Decarboxylase Preparations in the Estimation of Amino Acids and in Protein Analysis. Biochem. J. **39**, 46 (1945).
103. GERNGROSS, O., K. VOSS u. H. HERFELD: Über eine hochempfindliche streng tyrosinspezifische Farbreaktion auf para-substituierte Phenole. Der Tyrosingehalt verschiedener Proteine insbesondere von Kollagen und Gelatine. Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 435 (1933).
104. GORDON, A. H., A. J. P. MARTIN and R. L. M. SYNGE: Partition Chromatography of Free Amino Acids and Peptides. Biochem. J. **37**, Proc. XIII (1943).
105. — — — Partition Chromatography in Study of Protein Constituents. Biochem. J. **37**, 79 (1943).
106. — — — Technical Notes on the Partition Chromatography of Acetamino Acids with Silica Gel. Biochem. J. **38**, 65 (1944).

107. GRAFF, S., D. RITTENBERG and G. L. FOSTER: A New Procedure for Quantitative Analysis by Isotope Dilution with Application to the Determination of Amino Acids and Fatty Acids. J. biol. Chem. **133**, 737 (1940).
108. GRASSMANN, W., u. K. v. ARNIM: Über die Reaktion des Ninhydrins und Isatins mit Prolin und Oxyprolin. **509**, 288 (1934).
109. GREENE, R. D., and A. BLACK: The Microbiological Assay of Tryptophane in Proteins and Foods. J. biol. Chem. **155**, 1 (1944).
110. GUNSALUS, I. C., and W. D. BELLAMY: A Function of Pyridoxal. J. biol. Chem. **155**, 357 (1944).
111. HALWER, M., and G. C. NUTTING: Cysteine Losses Resulting from Acid Hydrolysis of Proteins. J. biol. Chem. **166**, 521 (1946).
112. HAMILTON, P. B.: Gasometric Determination of Glutamine Amino Acid Carboxyl Nitrogen in Plasma and Tissue Filtrates by the Ninhydrin Carbon Dioxide Method. J. biol. Chem. **158**, 375 (1945).
113. —, and D. D. VAN SLYKE: The Effects of the Volatile Aldehydes Formed on the Accuracy of the Manometric Ninhydrin Carbon Dioxide Method in Analysis of Certain α-Amino Acids. J. biol. Chem. **164**, 249 (1946).
113a. HAMOIR, G. C.: Chromatography in Agneons Solution with Mineral Precipitates Insoluble in Water. 1. Application to the Separation of Amino Acids by Adsorption on Ag_2S. Biochem. J. **39**, 465 (45).
114. HARVEY, D. G., E. J. MILLER and W. ROBSON: The Adamkiewicz, Hopkins and Cole, Rosenheim Tests for Tryptophan. An Investigation of the Configuration of the Organic Molecule Responsible for the Colour Formation and its Bearing of the Constitution of Yohimbine, with a Note on the Action of Formaldehyde on Tryptophan. J. chem. Soc. **1941**, 153.
115. HAUGAARD, G., and TH. D. KRONER: Partition Chromatography of Amino Acids with Applied Voltage. J. Amer. chem. Soc. **70**, 2135 (1948).
116. HAUSCHILDT, J. D., T. L. ISAACS and W. B. WALLACE: On the Determination of Tryptophane. J. biol. Chem. **167**, 331 (1946).
117. HEATHCOTE, J. G.: Flavianates of Lysine. Biochem. J. **42**, Proc. XLIV (1948).
118. HEGSTED, D. M.: The Amino Acid Requirement of Lactobacillus arabinosus. J. biol. Chem. **152**, 193 (1944).
119. HELLERMANN, L., F. P. CHINARD and P. A. RAMSDELL: o-Iodosobenzoic Acid, a Reagent for the Estimation of Cysteine, Glutathione and the Substituent Sulfhydryl Groups of Certain Proteins. J. Amer. chem. Soc. **63**, 2551 (1941).
120. HENDERSON, L. M., and E. E. SNELL: A Uniform Medium for Determination of Amino Acids with Various Microorganisms. J. biol. Chem. **172**, 15 (1947).
121. —, W. L. BRICKSON and E. E. SNELL: A Micromethod for the Microbiological Determination of Amino Acids. J. biol. Chem. **172**, 31 (1947).
122. HERKEN, H., u. H. ERXLEBEN: Manometrischer Nachweis von d-Peptidasen im Serum mit Hilfe von d-Aminosäureoxydasen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **269**, 47 (1941).
123. HESS, W. C., and M. X. SULLIVAN: The Quantitative Determination of Lanthionine. J. biol. Chem. **146**, 15 (1943).
124. — — The Determination of Phenylalanine in Proteins. Arch. Biochem. **5**, 165 (1944).
125. HILL, E. M., and W. ROBSON: The Salting out of Amino Acids from Protein Hydrolysates. I. The Isolation of Tyrosine, Leucine and Methionine. Biochem. J. **28**, 1008 (1934).
126. HINSBERG, H. K., u. K. LANG: Medizinische Chemie für den klinischen und theoretischen Gebrauch, S. 271ff. Berlin-Wien: Urban & Schwarzenberg 1938.

127. HOLIDAY, E. R.: Spectrophotometry of Proteins. I. Absorption Spectra of Tyrosine, Tryptophan and their Mixtures. II. Estimation of Tyrosine and Tryptophan in Proteins. Biochem. J. **30**, 1795 (1936).
128. HORN, M. J., and D. B. JONES: A Rapid Colorimetric Method for the Determination of Tryptophane in Proteins and Foods. J. biol. Chem. **157**, 153 (1945).
129. — — and A. E. BLUM: Colorimetric Determination of Methionine in Proteins and Foods. J. biol. Chem. **166**, 313 (1946).
130. HUNTER, A., and J. A. DAUPHINÉE: The Arginase Method for the Determination of Arginine and its Use in the Analysis of Proteins. J. biol. Chem. **85**, 627 (1929/30).
131. —, and J. B. PETTIGREW: A Manometric Method for the Enzymatic Determination of Arginine. Enzymol. **1**, 341 (1937).
132. HUTCHINGS, B. L., and W. H. PETERSON: Effect of Stimulatory Amino Acids on Lactobacillus helveticus. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **52**, 36 (1943).
133. IKEDA, K., u. S. SUZUKI: Brit. Pat. 9440/09 (1909); U.S.-Pat. 1015891 (1912).
134. JONES, D. B., and O. MOELLER: Some Recent Determinations of Aspartic and Glutamic Acids in Various Proteins. J. biol. Chem. **79**, 429 (1928).
134a. JONES, T. S. G.: The Chemical Nature of "Aerosporin". III. The Optical Configuration of the Leucine and Threonine Component. Biochem. J. **42**, Proc. LIX (1948).
135. KAPFHAMMER, J. u. R. ECK: l-Oxyprolin und l-Prolin. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **170**, 294 (1927).
136. —, u. H. SPÖRER: Eine neue Darstellung des l-Histidins aus Eiweiß. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **173**, 245 (1928).
137. KARRER, P., R. KELLER u. G. SCÖNYI: Einwirkungsprodukte des Azobenzol-4-carbonsäurechlorids auf α-Aminocarbonsäuren und deren Ester. Helv. chim. Acta **26**, 38 (1943).
138. — — Die Natur der WASERschen spezifischen Farbreaktion auf α-Aminosäuren. Helv. chim. Acta **26**, 50 (1943).
139. KENDRICK, A. B., and M. E. HANKE: The Use of Iodine and Other Modifications in the VAN SLYKE Manometric Amino Nitrogen Method. J. biol. Chem. **117**, 161 (1937).
140. KESTON, A. S., S. UDENFRIEND and R. K. CANNAN: Micro-Analysis of Mixtures (Amino Acids) in the Form of Isotopic Derivatives. J. Amer. chem. Soc. **68**, 1390 (1946).
140a. — — and M. LEVY: Paper Chromatography Applied to the Isotopic Derivative Method of Analysis. J. Amer. chem. Soc. **69**, 3151 (1947).
140b. — — and R. K. CANNAN: A Method for the Determination of Organic Compounds in the Form of Isotopic Derivatives. I. Estimation of Amino Acids by the Carrier Technique. J. Amer. chem. Soc. **71**, 249 (1949).
141. KIBRICK, A. C.: The Estimation of the Dicarboxylic Amino Acids by Titration. J. biol. Chem. **152**, 411 (1944).
142. KOBER, P. A., and K. SUGIURA: The Copper Complexes of Amino Acids, Peptides and Peptones. J. biol. Chem. **13**, 1 (1912).
143. KOFRÁNYI, E.: Proteinhydrolyse bei Zusatz von Zinn-II-chlorid. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **283**, 14 (1948).
144. KOLB, J. J., and G. TOENNIES: Methionine Studies. IV. A Color Reaction of Methionine. J. biol. Chem. **131**, 401 (1939).
145. — — The Investigation of Amino Acid Reactions by Methods of Non-aqueous Titrimetry. I. Acetylation and Formylation of Amino Groups. J. biol. Chem. **144**, 193 (1942).

146. KOSCHARA, W.: Aminosäuren aus Eiweißhydrolysaten. Kurze Mitteilung. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **280**, 55 (1944).
147. KOTAKE, T.: Zur Frage der Tryptophanzersetzung bei der Säurehydrolyse von Eiweiß. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **270**, 44 (1941).
148. KUHN, R., L. BIRKOFER u. F. W. QUACKENBUSH: Jodometrische Titration von SH-Gruppen; Mikromethode zur Bestimmung von Cystein und Methionin in Proteinen. Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 407 (1939).
149. —, u. TH. WIELAND: Über Dioxy-acylderivate des β-Alanins und l-Leucins aus der Leber des Thunfisches. Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 962 (1940).
150. KUIKEN, K. A., W. H. NORMAN, L. M. LYMAN, H. HALE and L. BLOTTER: The Microbiological Determination of Amino Acids. I. Valine, Leucine and Isoleucine. J. biol. Chem. **151**, 615 (1943).
151. KURTZ, A. C.: A New Method for Isolating l(+)-Lysine. J. biol. Chem. **140** 705 (1941).
152. LANG, K.: Eine Mikromethode zur Bestimmung des Histidins, insbesondere ein Verfahren zur Trennung von Histidin und Tyrosin. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **222**, 3 (1933).
153. LANGLEY, W. D.: Urinary Histidine. Determination of Histidine in Urine. Histidine in Normal and in Pregnancy Urines. J. biol. Chem. **137**, 255 (1941).
154. LAVINE, T. F.: An Iodometric Determination of Methionine. J. biol. Chem. **151**, 281 (1943).
155. LELAND, I. P., and G. L. FOSTER: A Method for the Determination of Thyroxine in the Thyreoid. J. biol. Chem. **95**, 165 (1932).
156. LEVENE, P. A., and L. W. BASS: Studies on Racemisation. VII. The Action of Alkali on Proteins: Racemisation and Hydrolysis. J. biol. Chem. **82**, 171 (1921).
157. LEVY, M., and A. H. PALMER: Iodometric Estimation of Small Quantities of Nitrogen without Destillation. J. biol. Chem. **136**, 57 (1940).
158. LIDELL, H. F., and H. N. RYDON: A New Indicator for Use in Partition. Chromatography: 3,6-Disulpho-β-naphthalene-azo-N-phenyl-naphthylamine. Biochem. J. **38**, 68 (1944).
159. LIEBEN, F., and C. LOO: On the Liberation of Free Amino Nitrogen from Proteins in the VAN SLYKE Apparatus. J. biol. Chem. **145**, 223 (1942).
160. LINDLEY, H., and H. PHILLIPS: Action of Alkalieson Wool II. The Identity of the Lanthionine-forming and Bisulfite-reactive Fraktions of the Combined Cystine of Wool. Biochem. J. **39**, 17 (1945).
161. LINDSTROM, H. V., and W. M. SANDSTROM: Sulfur in Proteins. VI. Qualitative Studies in the Alkaline Decomposition of Cystine. J. biol. Chem. **138**, 445 (1941).
162. LIPMAN, F., O. K. BEHRENS, A. E. KABIT and D. BURK: The Determination of the Total-d-Amino Acid-Content of Human Tumors and Normal Tissues by Means of d-Amino-Acid-Oxidase. Science **91**, 21 (1940).
163. —, R. D. HOTCHKISS and R. J. DUBOS: Occurence of d-Amino Acids in Gramicidine and Tyrocidine. J. biol. Chem. **141**, 163 (1941).
164. LUCAS, C. C., and J. M. R. BEVERIDGE: The Analysis of Hair Keratin. I. A Method for the Quantitative Removal of Cystine from Keratin Hydrolysates. Biochem. J. **34**, 1356 (1940).
165. LUGG, J. W. H.: Some Sources of Error in the Estimation of Cysteine and Cystine in Complex Materials when Acid Hydrolysis is Employed. Biochem. J. **27**, 1022 (1933).
166. — On the Use of Mercuric Salts and Nitrous Acid in the Colorimetric Determination of Tyrosine and Tryptophan Present in Solution. Biochem. J. **31**, 1423 (1937).

167. LYMAN, C. M., K. A. KUIKEN, L. BLOTTER and F. HALE: The Microbiological Determination of Amino Acids. II. Glutamic Acid. J. biol. Chem. **157**, 395 (1945).
168. MACFADYEN, D. A.: Determination of Ammonia Evolved from α-Amino Acids by Ninhydrin. J. biol. Chem. **159**, 507 (1944).
169. — Estimation of Formaldehyde in Biological Mixtures. J. biol. Chem. **158**, 107 (1945).
170. MACPHERSON, H. T.: Modified Procedures for the Colorimetric Estimation of Arginine and Histidine. Biochem. J. **36**, 59 (1942).
171. MARTIN, A. J. P., R. L. M. SYNGE and F. O. BELL: Some Applications of Periodic Acid to the Study of the Hydroxy Amino Acids of Protein Hydrolysates. Biochem. J. **35**, 294 (1941).
172. — —. A New Form of Chromatogram Employing Two Liquid Phases. I. A Theory of Chromatography. II. Application to the Micro Determination of the Higher Monoamino Acids in Proteins. Biochem. J. **35**, 1358, (1941).
173. — — Analytical Chemistry of Proteins in M. L. ANSON, and J. T. EDSALL: Advances in Protein Chemistry, Bd. 2, S. 1. 1945.
174. —, and R. MITTELMANN: Quantitative Microanalysis of Amino Acid Mixtures on Paper Partition Chromatograms. Biochem. J. **43**, 353 (1948).
175. — Partition Chromatography. Annals New York Acad. Sci. **49**, 249 (1948).
176. MASON, M. F.: The Manometric Determination of Amino Acids. Biochem. J. **32**, 719 (1938).
177. MCCARTHY, T. E., and M. X. SULLIVAN: A New and Highly Specific Colorimetric Test for Methionine. J. biol. Chem. **141**, 871 (1941).
178. MCCOLLUM, E. V., and A. A. RIDER: Fractionation of Amino Acids from Hydrolysates in Non-aqueous Systems. Science **108**, 111 (1948).
179. MCMAHAN, R., and E. E. SNELL: The Microbiological Determination of Amino Acids. I. Valine and Arginine. J. biol. Chem. **152**, 83 (1944).
180. MEINKE, W. W., and B. R. HOLLAND: Threonine-Serine Antagonism in Some Lactic Acid Bacteria. J. biol. Chem. **173**, 535 (1948).
181. MILLER, G. L., and E. E. MILLER: Determination of Nitrogen in Biological Materials. Improved KJELDAHL-NESSLER Method. Analyt. Chem. **20**, 481 (1948).
182. —, and J. A. HOUGHTON: The Micro KJELDAHL Determination of the Nitrogen Content of Amino Acids and Proteins. J. biol. Chem. **159**, 373 (1945).
183. MÖLLER, E. F., u. F. WEYGAND: Wuchsstoffe und ihre Antagonisten bei Mikroorganismen. FIAT Review German Sci. R. KUHN: Biochemistry Part IV, 121 (1948), und zwar S. 132.
184. MOORE, S., and W. H. STEIN: Determination of Amino Acids by the Solubility Product Method. J. biol. Chem. **150**, 113 (1943).
185. — — Partition Chromatography of Amino Acids on Starch. Annals New York Acad. Sci. **49**, 265 (1948).
186. — — Photometric Ninhydrin Method for Use in the Chromatography of Amino Acids. J. biol. Chem. **176**, 367 (1948).
186a. — — Chromatography of Amino Acids on Starch Columns. Solvent Mixtures for the Fractionation of Protein Hydrolysates. J. biol. Chem. **178**, 53 (1949).
187. MOUBASHER, R.: Estimation of α-Amino Acids in Pure Solutions, in Blood and in Urine with Peri-Naphthindan-2,3,4-trionehydrate. J. biol. Chem. **175**, 187 (1948).

188. MÜLLER, E.: Die Nitranilsäure als Basenfällungsmittel. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **268**, 245 (1941).

189. MUELLER, J. H.: A New Sulfur Containing Amino Acid Isolated from the Hydrolytic Products of Protein. J. biol. Chem. **56**, 157 (1923).

190. NAFTALIN, L.: Quantitative Chromatographic Estimation of α-Amino Acids. Nature **161**, 763 (1948).

191. NAKAMURA, K., and F. BINKLEY: Colorimetric Estimation of Cysteine. J. biol. Chem. **173**, 407 (1948).

192. NEUBERGER, A.: Stereochemistry of Amino Acids in M. L. ANSON and J. T. EDSALL: Advances in Protein Chemistry **4**, 198 (1948).

193. —, and F. SANGER: The Nitrogen of the Potatoe. Biochem. J. **36**, 662 (1942).

194. NICOLET, B. H., and L. A. SHINN: The Action of Periodic Acid on α-Amino Alcohols. J. Amer. chem. Soc. **61**, 1615 (1939).

195. — — The Determination of Serine by the Use of Periodate. J. biol. Chem. **139**, 687 (1941).

196. — — Does Hydroxyglutamic Acid Occur in Milk Proteins? J. biol. Chem. **142**, 139 (1942).

197. — — and L. J. SAIDEL: The Lability toward Alkali of Serine and Threonine in Proteins, and Some of its Consequences. J. biol. Chem. **142**, 609 (1942).

198. NICOLS, R. R., and H. W. ECKERT: A New Micro Colorimetric Method for the Determination of Tryptophan. New York State Department of Health, Annu. Reports **1941**, 26.

199. OLCOTT, H. S.: A Method for the Determination of Glutamic Acid in Proteins. J. biol. Chem. **153**, 71 (1944).

200. OTANI, S., N. NISHINO u. K. IMAI: Eine Farbenreaktion des Kynurenins und die Ergebnisse von einigen mit ihrer Hilfe ausgeführten Tierversuchen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **270**, 60 (1941).

201. PATEL, S. M., and A. SVEENIVASAN: Selenium as Catalyst in KJELDAHL Digestions. Analyt. Chem. **20**, 63 (1948).

202. PAULI, W.: Untersuchungen an elektrolytfreien, wasserlöslichen Proteinkörpern. I. Mitteilung. Die Elektrodialyse. Biochem. Z. **152**, 355 (1924).

203. PLATTNER, P. A., u. U. NAGER: Welkstoffe und Antibiotica. II. Mitteilung. Analyse und Charakterisierung der Enniatine. Über das Verhalten von N-Methylaminosäuren im Papierchromatogramm. Helv. chim. Acta **31**, 2203 (1948).

204. POLSON, A., V. M. MOSLEY and R. W. G. WYCKOFF: The Quantitative Chromatography of Silk Hydrolysate. Science **105**, 603 (1947).

205. POPE, C. G., and M. F. STEVENS: The Determination of Amino Nitrogen Using a Copper Method. Biochem. J. **33**, 1070 (1939).

206. PORTER, R. R., and F. SANGER: The Free Amino Groups of Hemoglobins. Biochem. J. **42**, 287 (1948).

207. PRESCOTT, B. A., and H. WAELSCH: A Microdetermination of Glutamic Acid and its Application to Protein Analysis. J. biol. Chem. **164**, 331 (1946).

208. RAPPAPORT, F.: Mikrochemie des Blutes. Wien-Leipzig 1935. S. 86.

208a. RAUEN, H. M., u. K. FELIX: Die chromatographische Abtrennung der Hexonbasen durch Wofatit C. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **283**, 139 (1948).

209. REGNERY, D. C.: A Leucineless Mutant Strain of Neurospora crassa. J. biol. Chem. **154**, 151 (1944).

210. ROPER, J. A., and H. MCILVAIN: Preparation and Antibacterial Action of Some Compounds Structurally Related to Glutamic Acid. Their Application in Microbiological Determination of Small Quantities of Glutamine. Biochem. J. **42**, 485 (1948).
211. ROTH, H.: Die Bestimmung des freien und gebundenen Tryptophans in Pflanzen. Angew. Chem. **52**, 149 (1939).
212. RUSSELL, J. A.: The Colorimetric Estimation of Small Amounts of Ammonia by the Phenol-Hypochlorite Reaction. J. biol. Chem. **156**, 457 (1944).
213. RYAN, F. J., and E. BRAND: A Method for the Determination of Leucine in Protein Hydrolysates and in Foodstuffs by the Use of a Neurospora Mutant. J. biol. Chem. **154**, 161 (1944).
214. SAKAMI, W., and G. TOENNIES: The Investigation of Amino Acid Reactions by Methods of Non-aqueous Titrimetry. II. Differential Acetylation of Hydroxy-Groups and a Method for the Preparation of the O-Acetyl Derivatives of Hydroxy Amino Acids. J. biol. Chem. **144**, 203 (1942).
215. SANDKUHLE, J., P. L. KIRK and B. CUNNINGHAM: Quantitative Drop Analysis. XVII. Gasometric Determination of Amino Nitrogen. J. biol. Chem. **146**, 427 (1942).
216. SANGER, F.: Free Amino Groups of Insulin. Biochem. J. **39**, 507 (1945).
217. SCHMIDT, C. L. A.: The Reaction between Nitrous Acid and Certain Amino Acids and Related Compounds at 45°. J. biol. Chem. **82**, 587 (1929).
218. SCHNEIDER, F.: Über die chemische Zusammensetzung des Kollagens. Collegium (Darmstadt) **1940**, 97.
219. SCHÖBERL, A.: Über die Isolierung von Lanthionin aus vorbehandelter Schafwolle. Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 970 (1943).
220. SCHÖNBERG, A., R. MOUBASHER and A. MOSTAFA: Degradation of Aminoacids to Aldehyds and Ketones by Interaction with Carbonyl Compounds. J. chem. Soc. (London) **1948**, 176.
221. SCHOTT, H. F., L. B. ROCKLAND and M. S. DUNN: Investigations of Amino Acids, Peptides and Proteins. XVI. A Source of Error in the Manometric Ninhydrin Method for the Analysis of Amino Acids and its Suppression by the Use of Hydrazine. J. biol. Chem. **154**, 397 (1944).
222. SCHRAMM, G., u. J. PRIMOSHIG: Über die quantitative Trennung neutraler Aminosäuren durch Chromatographie. Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 373 (1943).
223. — — Die Adsorptionsanalyse der Aminosäuren. II. Mitteilung. Die Gruppentrennung des Gesamtgemisches. Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 417 (1944).
224. — — Die Adsorptionsanalyse der Aminosäuren. III. Mitteilung. Versuche zur Trennung der basischen Aminosäuren. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **282**, 271 (1947).
225. — — Über die Wirkung von Katalysatoren auf die Säurehydrolyse von Proteinen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **283**, 34 (1948).
226. SCHRYVER, S. B., H. W. BUSTON and D. H. MUKHERJEE: The Isolation of a Product of Hydrolysis of the Proteins Hitherto Undescribed. Proc. Roy. Soc. London (B) **98**, 58 (1925).
227. SCHWAB, G. M., u. G. DATTLER: Anorganische Chromatographie. II. Mitteilung. Säuretrennung. Angew. Chem. **50**, 691 (1937).
228. SCOTT, M. L., L. C. NORRIS and G. F. HEUSER: New Factors in the Nutrition of Lactobacillus casei. J. biol. Chem. **166**, 481 (1946).
229. SHANKMAN, S.: Amino Acid Nutrition of Lactobacillus arabinosus. J. biol. Chem. **150**, 305 (1943).
230. —, S. M. DUNN and L. B. RUBIN: The Microbiological Analysis of Seven Amino Acids with Lactobacillus casei. J. biol. Chem. **151**, 511 (1943).

231. SHAW, J. L. D., and W. D. MACFARLANE: The Determination of Tryptophan by a Modified Glyoxylic Acid Method Employing Photoelectric Colorimetry. Canad. J. Res. **16** B, 361 (1938).
232. SHEMIN, G., and G. L. FOSTER: The Isotope Dilution Method of Amino Acid Analysis. Annals New York Acad. Sci. **47**, 119 (1946).
233. SHINN, L. A., and B. H. NICOLET: The Determination of Threonine by the Use of Periodate. J. biol. Chem. **138**, 91 (1941).
234. SIMS, E. A. H.: Microdetermination of Glycocyamine by Means of a Synthetic Ion Exchange Resin for Chromatographic Separation. J. biol. Chem. **158**, 239 (1945).
235. SISCO, R. C., B. CUNNINGHAM and P. L. KIRK: Quantitative Drop Analysis. XIII. Formol Titration of Amino Nitrogen. J. biol. Chem. **139**, 1 (1941).
236. SNELL, E. E.: The Microbiological Assay of Amino Acids. In M. L. ANSON and J. T. EDSALL: Advances in Protein Chemistry, **2**, 85 (1945).
237. — Microbiological Methods in Amino Acid Analysis. Annals New York Acad. Sci. **47**, 161 (1946).
238. SOBEL, A. E., A. HIRSCHMANN and L. BESMAN: A Convenient Microtitration Method for the Estimation of Amino Acids. J. biol. Chem. **161**, 99 (1945).
239. SOFIN, L. H., H. ROSENBLUM and R. C. SHULTZ: A Color Reaction for Methionine. J. biol. Chem. **147**, 557 (1943).
240. SPERBER, E.: Electrolytic Separation of Basic, Neutral and Acid Amino Acids in Protein Hydrolysates. J. biol. Chem. **166**, 75 (1946).
241. SPIES, J. R., and D. C. CHAMBERS: Chemical Determination of Tryptophan; Study of Color Forming Reactions of Tryptophan, p-Dimethylaminobenzaldehyde, and Sodium Nitrite in Sulfuric Acid Solution. Analyt. Chem. **20**, 30 (1948).
242. SPRINCE, H., and D. W. WOOLLEY: The Occurence of the Growth Factor Strepogenin in Purified Protein. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1734 (1945).
243. STEIN, W. H., S. MOORE, G. STAMM, CHI-YUAN CHON and M. BERGMANN: Aromatic Sulfonic Acids as Reagents for Amino Acids. The Preparation of l-Serine, l-Alanine, l-Phenylalanine, and l-Leucine from Protein Hydrolysates J. biol. Chem. **143**, 121 (1942).
244. — — The Use of Specific Precipitants in the Amino Acid Analysis of Proteins. Annals New York Acad. Sci. **47**, 95 (1946).
245. — — Chromatography of Amino Acids on Starch Columns. Separation of Phenylalanine, Leucine, Isoleucine, Methionine, Tyrosine and Valine. J. biol. Chem. **176**, 337 (1948).
246. STEINHARDT, J.: Catalysed Hydrolysis of Amide and Peptid Bonds in Proteins. J. biol. Chem. **141**, 995 (1941).
246a. —, and CH. H. FUGITT: Res. Pap. RP. 1503 des U. S.-Dep. of Commerce. Nat. Bureau of Standards **1942**, 315.
247. STERN, A., E. F. BEACH and I. G. MACY: Polarographic Microdetermination of Cystine in Protein Hydrolysates. J. biol. Chem. **130**, 733 (1939).
248. — — Microdetermination of Homocystine in Pure Solution with the Dropping Mercury Cathode. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **43**, 104 (1940).
249. SULLIVAN, M. X., and W. C. HESS: Improvements in Methods of Hydrolysis of Proteins: Shortening the Time for Estimating Cystine. J. biol. Chem. **117**, 423 (1937).
250. —, H. S. MILONE, and E. L. EVERITT: A Rapid Procedure for Estimating the Tryptophan Content of Casein. J. biol. Chem. **125**, 471 (1938).
251. —, W. C. HESS and H. W. HOWARD: The Quantitative Estimation of Both Cystine and Cysteine in Mixtures. J. biol. Chem. **145**, 621 (1942).

252. SULLIVAN, M. X., and W. C. HESS: A Study of the Various Procedures for the Estimation of Tryptophane. J. biol. Chem. **155**, 441 (1944).
253. SYNGE, R. L. M.: Analysis of a Partial Hydrolysate of Gramicidin by Partition Chromatography with Starch. Biochem. J. **38**, 285 (1944).
254. TETZNER, E.: Erhöhung der Empfindlichkeit der Ninhydrin-Reaktion durch Zusatz von Ascorbinsäure. Mikrochemie **28**, 141 (1940).
255. THOMAS, M. P.: Sur une réaction colorée de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chim. France **11**, 797 (1912); **13**, 398 (1913).
256. THOMAS, L. E.: A New Method for the Determination of Tyrosine and its Use in Determining the Tyrosine Content of Edestin, Casein and Tobacco Mosaic Virus. Arch. Biochem. **5**, 175 (1944).
257. THOMAS, M. D., and R. H. HENDRICKS: The Hydrolysis of Cystine and the Fractionation of Sulfur in Plant Tissues. J. biol. Chem. **153**, 313 (1944).
258. TISELIUS, A.: Adsorption Analysis of Amino Acids and Peptides. Ark. Kemi, Mineral. o. Geol. **15** B, 1 (1941).
259. — Studien über Adsorptionsanalyse. I. Kolloid-Z. **105**, 101 (1943).
260. —, B. DRAKE and L. HAGDHHL: Group Separation of Amino Acids by Adsorption Analysis. Experientia **3**, 651 (1947).
261. — Adsorption Analysis of Amino Acid Mixtures. In M. L. ANSON and J. T. EDSALL: Advances in Protein Chemistry **3**, 67 (1947).
262. TOENNIES, G., and TH. P. CALLAN: On the Perchloric Acetic Acid Method of Amino Acid Titration. J. biol. Chem. **125**, 259 (1938).
263. —, and J. J. KOLB: Methionine Studies. I. The Reaction of Methionine and other Amino Acids with Mercuric Chloride. J. biol. Chem. **126**, 367 (1938).
264. —, and T. P. CALLAN: Methionine Studies. III. A Comparison of Oxidative Reactions of Methionine, Cysteine and Cystine. Determination of Methionine by Hydrogen Peroxide Oxidation. J. biol. Chem. **129**, 481 (1939).
265. — and J. J. KOLB: Methionine Studies. VI. d,l-Methionine Sulfone. J. biol. Chem. **140**, 131 (1941).
266. — — The Investigation of Amino Acid Reactions by Methods of Non-aqueous Titrimetry. III. The Determination of Hydroxy (and Analogous) Groups. J. biol. Chem. **144**, 219 (1942).
267. TOMPKINS, E. R., and P. L. KIRK: Quantitative Drop Analysis. XVI. An Improved Diffusion Method for Total Nitrogen. J. biol. Chem. **142**, 477 (1942).
268. TOWN, B. W.: The Isolation of Pure l-Proline. Biochem. J. **22**, 1083 (1928).
269. — The Microdetermination of Glycine in Protein Hydrolysates. Biochem. J. **30**, 1833 (1936).
270. — The Separation of Amino Acids by Means of their Copper Salts. II. An Investigation of the Methyl-alcohol Soluble Copper Salt Fraction and the Yield of Proline from Gliadin. Biochem. J. **30**, 1837 (1936).
271. — The Separation of Amino Acids by Means of their Copper Salts. III. The Hydrolysis of Gliadin. An Investigation of the Dicarboxylate Fraction, Including the Isolation of r-Glutamic Acid as an Hydrolysis Product. Biochem. J. **35**, 417 (1941).
272. TOYODA, H.: A Micromethod for the Determination of Disulfide and Sulfhydryl Compounds. I. Bull. Chem. Soc. (Japan) **9**, 263 (1934).
273. TRISTRAM, G. R.: The Basic Amino Acids of Leaf Proteins. With a Discussion of Various Methods of Analysis. Biochem. J. **33**, 1271 (1939).
274. — The Application of Partition Chromatography to the Determination of Monoamino Acids in Proteins. Biochem. J. **40**, 721 (1946).

275. TURBA, F.: Chromatographie der basischen Aminosäuren an Bleicherden. I. Mitteilung. Über das Adsorptionsverhalten von Eiweißspaltprodukten. Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1829 (1941).
276. —, u. M. RICHTER: Über das Adsorptionsverhalten von Eiweißspaltprodukten. II. Mitteilung. Chromatographie der Aminodicarbonsäuren an Aluminiumoxyd. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 340 (1942).
277. — — u. F. KUCHAR: Quantitative chromatographische Trennung der Monoaminomonccarbonsäuren. Naturwiss. **31**, 508 (1943).
278. —, u. E. v. SCHRADER-BEIELSTEIN: Quantitative Bestimmung der Monoamino-monocarbonsäuren. Naturwiss. **34**, 57 (1947).
279. — — Chromatographische Trennung der Azoharnstoffderivate von α-Aminosäuren an Zinkcarbonat. Naturwiss. **35**, 123 (1948).
280. — Verfahren zur Isolierung und quantitativen Bestimmung des Lysins in Proteinhydrolysaten. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **283**, 19 (1948).
281. — Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **2**, 49 (1948/49).
282. TUTIYA, Y.: Methionine and its Derivatives. I. Detection. J. Agr. Chem. Soc. (Japan) **17**, 48 (1941).
283. URBACH, K. F., and J. J. SVARZ: Apparatus for Semimicro Electrodialysis. Science **108**, 93 (1948).
284. VAN SLYKE, D. D., and V. H. KUGEL: Improvements in Manometric Micro Kjeldahl and Blood Urea Methods. J. biol. Chem. **102**, 489 (1933).
285. —, and A. HILLER: Determination of Ammonia in Blood. J. biol. Chem. **102**, 499 (1933).
286. —, and R. T. DILLON: Gasometric Determination of Carboxyl Groups in Amino Acids. Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. **34**, 362 (1936).
287. — — D. A. MACFADYEN and P. HAMILTON: Gasometric Determination of Carboxyl Groups in Free Amino Acids. J. biol. Chem. **141**, 627 (1941).
288. —, D. A. MAC FADYEN and P. HAMILTON: Determination of Free Amino Acids by Titration of the Carbon Dioxide Formed in the Reaction with Ninhydrin. J. biol. Chem. **141**, 671 (1941).
289. —, A. HILLER and D. A. MACFADYEN: The Determination of Hydroxylysine in Proteins. J. biol. Chem. **141**, 681 (1941).
290. — — and R. T. DILLON: Solubilities and Compositons of the Phospho-12-tungstates of the Diamino Acids and of Proline, Glycine, and Tryptophane. J. biol. Chem. **146**, 137 (1942).
291. VASSEL, B.: A Colorimetric Micromethod for the Estimation of Cystine and Cysteine. J. biol. Chem. **140**, 323 (1941).
292. VICKERY, H. B.: The Determination of Arginine by Means of Flavianic Acid. J. biol. Chem. **132**, 325 (1940).
293. — The Preparation of Histidine by Means of 3,4-Dichlorobenzenesulfonic Acid. J. biol. Chem. **143**, 77 (1942).
294. — The Histidine Content of the Hemoglobin of Man and of the Horse and Sheep, Determined with the Aid of 3,4-Dichlorobenzene-sulfonic Acid. J. biol. Chem. **144**, 719 (1942).
295. — Rules for the Nomenclature of the Natural Amino Acids and Related Substances. J. biol. Chem. **169**, 237 (1947).
296. VIRTANEN, A. J., T. LAINE, u. T. TOIVONEN: Quantitative Bestimmung von gewissen Aminosäuren nach der Ninhydrinmethode. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **266**, 193 (1940).
297. —, and N. RAUTANEN: Determination of Certain Amino Acids by Ninhydrin Oxydation to Volatile Aldehydes. Biochem. J. **41**, 104 (1947).

298. VOLCANI, B. E., and E. E. SNELL: The Effects of Canavanine, Arginine and Related Compounds on the Growth of Bacteria. J. biol. Chem. **174**, 893 (1948).
299. WACHTEL, J. L., and H. G. CASSIDY: Chromatography as a Means of Separating Amino Acids. J. Amer. chem. Soc. **65**, 665 (1943).
300. WANAG, G.: Einige Derivate der Indangruppe als Reagenzien auf Amine. III. Nachweis primärer Aminogruppen mittels Bindons. Z. analyt. Chem. **122**, 119 (1941).
301. WARBURG, O., W. CHRISTIAN u. A. GRIESE: Wasserstoffübertragendes Co-Ferment, seine Zusammensetzung und Wirkungsweise. Biochem. Z. **282**, 157 (1935).
302. WARSHOWSKY, B., and M. W. RICE: Determination of Aspartic Acid. Analyt. Chem. **20**, 341 (1948).
303. WERLE, E.: Aminosäure-Decarboxylasen. Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **1**, 504 (1947/48).
304. WHITE, J. W.: Chromatographic Separation of Aliphatic 2,4-Dinitro-phenylhydrazones. Analyt. Chem. **20**, 726 (1948).
305. WIELAND, H., u. H. J. PISTOR: Über das Curarin aus Calebassen-Curare. II. Liebigs Ann. Chem. **536**, 68 (1938).
306. —, u. B. WITKOP: Über die Giftstoffe des Knollenblätterpilzes. V. Zur Konstitution des Phalloidins. Liebigs Ann. Chem. **543**, 171 (1940).
307. WIELAND, TH.: Quantitative Trennung von Aminosäuren durch Austauschadsorption an Aluminiumoxyd. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **273**, 24 (1942).
308. — Anwendung der sauren und basischen Aluminiumoxydsäule zur Analyse von Eiweißhydrolysaten. Naturwiss. **30**, 374 (1942).
309. — Über die Glutaminsäure aus Tumoren. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 1001 (1942).
310. —, u. L. WIRTH: Quantitative Trennung von Asparaginsäure und Glutaminsäure mit der sauren Aluminiumoxydsäule. Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 823 (1943).
311. — Die chromatographischen Methoden zur Trennung von Aminosäuren. Chemie **56**, 213 (1943).
312. —, u. W. PAUL: Bestimmung von l- und d-Glutaminsäure im Hydrolysat von BROWN PEARCE-Tumoren mit N^{15}-Glutaminsäure. Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 34 (1944).
313. — Abtrennung der basischen Aminosäuren durch Adsorption an Wofatit C. Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 539 (1944).
314. —, u. H. FREMEREY: Trennung der neutralen Aminosäuren über die Cu-Komplexe durch Verteilungschromatographie. Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 234 (1944).
315. —, u. E. FISCHER: Über Elektrophorese auf Filtrierpapier. Trennung von Aminosäuren und ihren Kupferkomplexen. Naturwiss. **35**, 29 (1948).
316. — — Die „Retentionsanalyse", eine quantitative Ultramikromethode. Naturwiss. **35**, 29 (1948).
317. — Die Retentionsanalyse und ihre Brauchbarkeit zur quantitativen Auswertung von Papierchromatogrammen und Papier-iono-pherogrammen künstlicher Aminosäuregemische. Angew. Chem. **60**, 313 (1948).
318. — C. VOGELBACH u. H. J. BIELIG: Das Verhalten der Aminosäuren gegenüber Natriumchlorit und ihre quantitative Desaminierung mit Hypochlorit. Liebigs Ann. Chem. **561**, 116 (1948).
319. — Aminosäuren, Peptide und Proteine. In R. KUHN: Biochemistry III FIAT Review of German Science, S. 1. 1948.

320. WILLIAMS, R. J., and H. KIRBY: Paper Chromatography Using Capillary Ascent. Science **107**, 481 (1948).
321. WINEGARD, H. M., and G. TOENNIES: A Method for Computing the Effective Extraneous Reducers in the Folin-Spectrophotometric Determination of Cystine. J. biol. Chem. **174**, 45 (1945).
322. WINNICK, T.: Microdiffusion Methods Based on the Bisulfite Reaction. III. Determination of Threonine by Oxidation with Periodate. J. biol. Chem. **142**, 461 (1942).
323. WINKLER, S.: Über die Tryptophanreaktion von ADAMKIEWICZ-HOPKINS. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **228**, 50 (1934).
324. WINKLER, W.: Über das 1,2-Diacetylbenzol. Chem. Ber. **81**, 256 (1948).
325. WINTERSTEIN, A.: Aminosäuren. In G. KLEIN: Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. 4, Teil 3, S. 1. Wien: Springer 1933.
326. WOIWOD, A. J.: Microestimation of Amino Nitrogen and its Application to Paper Partition Chromatography. Nature **161**, 169 (1948).
327. WOOLEY, J. G., and W. H. SEBRELL: Two Microbiological Methods for the Determination of l-(—)-Tryptophane in Proteins and Other Complex Substances. J. biol. Chem. **157**, 141 (1945).
328. ZAMECNIK, P. C., G. J. LAVIN and M. BERGMANN: Microphotometric Determination of the Rate of Enzymic Protolysis. J. biol. Chem. **158**, 537 (1945).
329. ZEILE, K.: Eine neue Methode zur quantitativen Analyse von Aminosäuregemischen. Naturwiss. **33**, 252 (1946).
330. ZIMMERMANN, W.: Die Chinizarinsulfosäure (Rufiansäure) als Basenfällungsmittel. I u. II. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **188**, 180 (1930); **189**, 155 (1930).
331. — u. D. P. CUTHBERTSON: Über eine analytisch günstige Abwandlung der Pikrolonsäure: m-Brompikrolonsäure. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **205**, 38 (1932).
332. ZITTLE, C. A., and N. R. ELDRED: Determination of l-Lysine with a Specific Decarboxylase. J. biol. Chem. **156**, 401 (1944).

(Abgeschlossen im März 1949.)

Prof. Dr. TH. WIELAND, (22b) Mainz,
Organisch-chemisches Institut Johannes Gutenberg-Universität.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 292—301 (1949).

Countercurrent Distribution and Some of Its Applications*.

I. The Isolation of Active Principles: Fractionation Theory.

By

LYMAN C. CRAIG.

With 7 Figures.

Certainly one of the major experimental difficulties of organic chemistry is the separation and isolation of individual compounds from mixtures. The term "active principles" has been placed in the title with the thought that if it were only called "Fractionation Theory" or "The Art of Separating Mixtures", little interest would be aroused. Nonetheless, to the organic chemist the problem of isolating an active principle is basically no different than any other problem of fractionation with the exception that the presence of a particular compound or group of compounds has been indicated by a specific biological response.

In any case, the chemist is presented with a mixture — with natural products it is usually a complex mixture — and he must decide upon a method of procedure. It may be inferred that something in regard to the stability of the principle is already known since considerable information on this point can be derived before any attempt at separation has been made. Usually the first objective is the separation of the principle from materials which differ greatly in their physical properties. For this purpose an attempt is made to "extract" it by using a solvent which will either dissolve inactive accompanying material or preferentially extract the activity desired. This is one of the oldest approaches to the problem, but in most laboratories it is still used only for the roughest of separations.

A second and almost as widely used approach is that of preferential adsorption on some adsorbing agent such as charcoal, alumina, etc. This may be regarded as extraction in which one of the phases is a solid. When applied in such a manner that it becomes a countercurrent process, as in chromatography, the procedure is indeed a powerful method for separating closely related compounds.

A third and newer approach is that called "Ion Exchange". This can be a column process much like chromatography. It offers great promise.

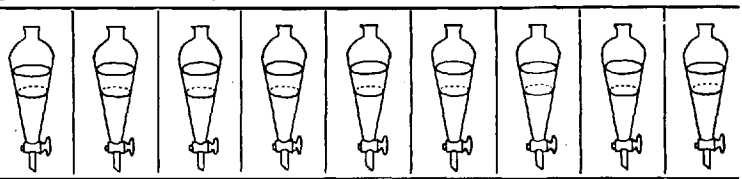
Distillation is one of the methods of choice of the organic chemist for substances of small molecular weight which are sufficiently volatile.

* This article represents the text of three lectures given by the author in July-August 1948 while in Germany as a member of the "Medical Mission of the Unitarian Service Committee".

Few active principles come within this category even though distillation at extremely high vacuum has somewhat extended the range.

Fractional crystallization is an art which is extremeiy useful but so often fails because the substance does not crystallize readily. It usually requires much preliminary purification.

Fig. 1. Distribution of a single solute between two immiscible solvents. *Fractionation.*



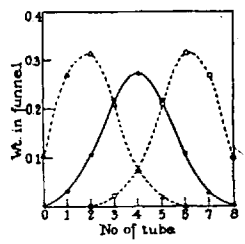
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
0	1.000								
1	.500	.500							
2	.250	.500	.250						
3	.125	.375	.375	.125					
4	.062	.250	.375	.250	.062				
5	.031	.156	.313	.313	.156	.031			
6	.015	.093	.234	.313	.234	.093	.015		
7	.008	.054	.164	.274	.274	.164	.054	.008	
8	.004	.031	.109	.219	.274	.219	.109	.031	.004

$$(x + y)^n$$

Let x = Fraction in upper layer

Let y = Fraction in lower layer

$$N = n\left(\frac{K}{K+1}\right)$$



Other methods of separation include centrifugation, electrophoresis, dialysis, diffusion etc.

Irrespective of the method of fractionation chosen, all have a common theoretical basis in that, in the broadest sense, all deal with the manipulation of fractional parts. In certain cases, the fraction which is transferred or removed may be so large that for practical purposes, it amounts to complete removal, but this is a limiting case. The majority of separations are not so easy and losses occur at each step. The theory of the manipulation of fractions can be treated most clearly for the case of fractional extraction.

Let us take the case of a single solute, A, which can be distributed between two immiscible solvents. If at equilibrium with equal volumes of the two phases, half of the solute is found in each phase, then the

partition ratio of the solute is 1. If the upper phase is transferred to a new equilibration tube (separatory funnel) containing an equal volume of fresh lower phase, and an equal volume of fresh upper phase is added to the first tube, the state of affairs represented by line 1, Table of Fig. 1, will be reached. Half the total solute will be in each of the two units. Now if both are equilibrated and the upper from 1 transferred to tube 2, that from tube 0 transferred to tube 1, fresh upper phase added to 0 and fresh lower phase added to tube 2, the state of affairs shown by line 2 will be reached. 0.25 of the original will be in tube 2, 0.5 will be in tube 1 and 0.25 will be in tube 0. If this process of alternate equilibration and transfer is continued until a total of 9 units is in the series, then the distribution of solute in each unit will be shown by the bottom line of the table. The number of stages applied is given by the vertical column on the left while the number of the unit is given by the top horizontal column.

If the fraction of the original in a unit is plotted against the consecutive number of the unit as given in the table, a distribution curve can be obtained with a maximum at tube 5. Had the partition ratio been 3, then the distribution would have been the curve on the right for eight stages, while for a ratio of 0.333, it would have been that on the left. If two solutes had been present in equal amount and the K's had been 3 and 0.333 respectively, then the separation in each tube would be plainly evident from the two curves.

Mathematically, the Table of figure 1 is represented by the binomial expansion, $(X + Y)^n = 1$, where n is the number of stages or transfers, X is the fraction in the upper phase and Y is the fraction in the lower phase. If X is the fraction in the upper phase of a single tube, then $1 - X$ is the fraction in the lower phase. By definition the partition ratio K is $X/(1 - X)$. Thus X is equal to $K/(K + 1)$ and the fraction in the lower phase is $1 - K/(K + 1)$ or $1/(1 + K)$. The binomial expansion in terms of the partition ratio for equal volumes becomes

$$\left(\frac{K}{K+1} + \frac{1}{1+K}\right)^n \tag{1}$$

Fortunately, the necessary mathematics for higher numbers of stages are all worked out for us in the mathematics of probability. When the number of stages is large, such a curve becomes the normal curve of error. By substituting $K/(K + 1)$ for p and $1/(1 + K)$ for q in the probability function

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi p q n}} e^{\frac{-x^2}{2pq}} \tag{2}$$

an approximation of the distribution can be calculated which will be sufficiently accurate for the purpose.

Of course, it would be very laborious to perform such extractions separately. However, methods are now available for performing the extractions mechanically and this has made possible a new field of investigation. The name "Countercurrent Distribution" has been given to this type of extraction. Figure 2 is a photograph of one type of the apparatus. Its only function is the performance of large numbers of extractions in a systematic manner (*2*).

Fig. 2. Steel countercurrent distribution apparatus.

Procedure. A distribution is performed in the distribution apparatus as follows: Two immiscible liquid phases are chosen which separate satisfactorily and in which the solute of interest will distribute itself about equally when equal volumes of the phases are taken. Previous to their use, the phases are mutually saturated with each other by shaking in a large separatory funnel. The upper segment of the apparatus is then rotated a distance of half of one tube. In this position all the tubes are connected at the sliding surface so that when sufficient of the lower phase to fill the lower segment (approximately 200 cm^3 for a 25 tube apparatus) is poured into a tube, it will flow through to all the tubes. The upper segment is then rotated one complete turn in order to level off the lower phase but is stopped so that upper tube 0 is over lower tube 0. The upper segments of the tubes of the apparatus are numbered counterclockwise 0 to 24 while the lower segments are numbered clockwise. An equal volume of the upper phase is added to the lower in each tube and the sample to be distributed (usually from 0.1 to 2.0 g of material) is placed in tube 0/0. After replacing the cover, equilibrium is reached by inverting the tubes approximately 20 times by means of the crank. When the layers have separated, the upper wing nut is loosened and while the tubes are in a vertical position, the upper segment is moved clockwise one position so that upper 0 is over lower 1. One transfer has now been achieved. The wing nut is tightened.

The apparatus is tumbled twenty times again, the layers are permitted to separate and a second transfer is made. A complete transfer requires about three minutes. When upper 0 has reached lower 24, the fundamental procedure has been accomplished. It is usually profitable to determine the total amount of solute in each tube at this point in order to find if a sufficient separation has been reached. The result is best interpreted by means of a counter-current distribution pattern which is a plot of the amount in each tube against the consecutive number of the tube.

If a sufficient separation has not been reached, the contents of tube 0/24 can be withdrawn by means of a siphon or pipette and set aside. Fresh phases can be added and a further transfer made, again withdrawing the appropriate tube which is now 1/24. This procedure can be continued indefinitely until the solute is in part or all in the withdrawn series. A pattern of weight versus number of withdrawn tube can be made in this case. This is analogous to an elution pattern in chromatography.

The significance of Figure 1 when carried to higher numbers of stages can be appreciated somewhat better by Figure 3. Here an artificial

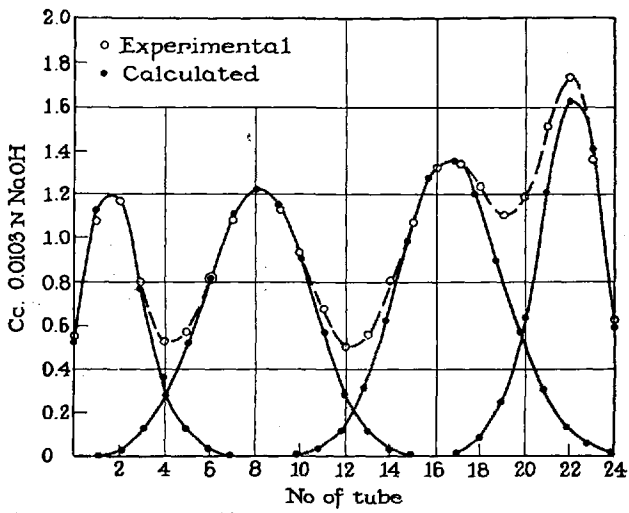


Fig. 3. Distribution of four fatty acids between isopropyl ether and phosphate buffer; 25 stages

mixture of equal parts of acetic, propionic, butyric and valeric acids was taken and distributed between isopropyl ether and phosphate buffer. Twenty-five stages were applied. An aliquot from each tube was then titrated directly against standard alkali and the amount required was plotted against the tube number. This gave the result shown in Figure 3. The calculated curve for each individual maximum was then superimposed. Thus the composition in each tube is shown. If our calculations are correct, tubes 15, 16 and 17 should contain only pure butyric acid. This can be proved in a simple manner by redistributing the acid from these tubes exactly as was done for the original. This gave the curve of Figure 4. The position of the peak is thus a physical constant characteristic of the particular acid, and from the position of the peak, the partition ratio can be calculated. It can take the place of a boiling point or of a melting point.

The possibilities inherent in such a method for the isolation of active principles is at once apparent. After a more or less quantitative biological response has been established, a search is made for two

immiscible solvents for distribution of the crude mixture. A system suitable for the purpose will be one which will yield approximately equal activity in each phase. When this is found, a series of tubes is set up and the serial multiple extraction performed. The number of tubes advisable will vary with the problem. After completion of the series, each tube is assayed for activity and a curve of activity versus tube number plotted. If the normal curve of error is obtained, a single active principle is indicated or possibly more than one with identical

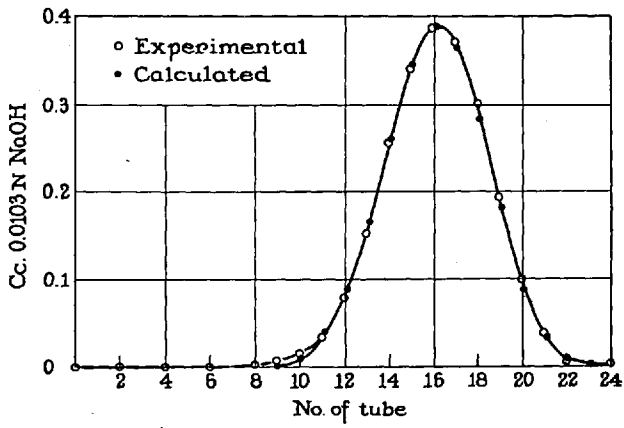


Fig. 4. Redistribution of acid from tubes 15, 16 and 17 (Figure 3).

partition ratios. Redistribution in a different pair of phases will help decide this latter point.

Perhaps the method can be shown better by a description of the isolation of a new antibiotic in our laboratory (*4*). Antibiotic activity had been demonstrated in ether extracts from the mold *Aspergillus ustus*.

Dr. GEORGE HOGEBOOM and I found that the amorphous residue from the extract could be distributed between cyclohexanol and buffer solution so that the antibiotic activity was approximately equally distributed. We then ran through a series of 12 funnels and found a plot of the activity versus funnel number to give two peaks. This indicated at least two principles. Moreover, the quantitative absorption of light at 260 mμ followed the activity. Such an extinction was a much more quantitative estimate than biological activity. We then ran through a series of 25 units in the countercurrent distribution machine. This gave the distribution pattern shown in Figure 5. The band on the left was inactive and was discarded. The central band immediately gave crystals upon evaporation of the maximal tube. These melted as shown and their properties could not be changed by recrystallization. The material was an antibiotic.

Its composition was quickly derived by ultimate analysis. Surprisingly enough, it proved to contain non-ionizable halogen. The active band on the right was too broad for the calculated curve (the dotted curve) and therefore was suspected of containing at least two substances. Only one of the tubes from this band gave crystalline material. The entire band was therefore redistributed in a different phase pair. This gave Figure 6 which indicates that two bands have been satisfactorily resolved. The central band crystallized sharply and did not change on further investigation. The active band on the right was not investigated further but may have contained several antibiotics. The amorphous material required for these experiments totaled about 200 mg. A minimum of labor was required since the determination of a few partition ratios permitted the best choice of a procedure.

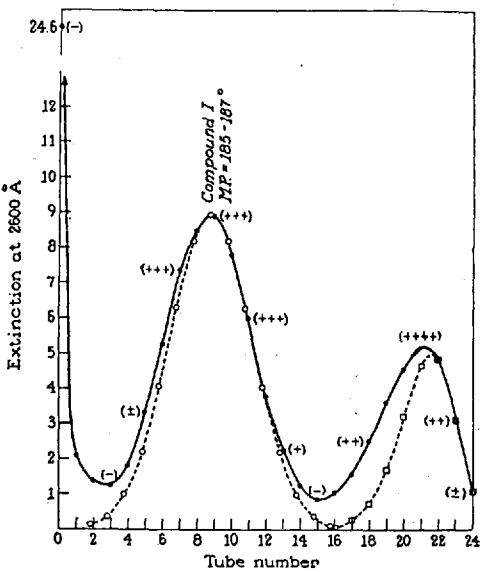


Fig. 5. Distribution of antibiotic material from aspergillus ustus. ● Experimental values; O calculated distribution for partition coefficient of 0.58; + and — refer to biological activity at equal dilution, e. g., ++++ indicates complete inhibition of growth.

Is is apparent that one can work entirely in solution at room temperature or lower with labile material and progress logically toward isolation and characterization. The conditions of operation are the mildest one could imagine and loss of active material is reduced to a minimum.

The method has been applied a number of times in the penicillin field. In one case the mold was grown on medium containing radioactive sulfur as sodium sulfate (5). The crude penicillin was extracted with amyl acetate from the acidified broth, then extracted into water containing sufficient sodium bicarbonate to maintain a pH near 7. The aqueous extract was evaporated from the frozen state to give the crude amorphous penicillin with a small percentage of activity. This crude material was then subjected to distribution in a series containing 25 units with ether and buffer as the two phases. The result shown in Figure 7 was obtained. A curve based on weight and a curve based on activity were obtained. All the activity was in a band near the center but most of the weight fell in

the tubes to the far left. When the solute in the ether of those tubes near the maximal activity was treated with triethylamine, crystals of pure benzylpenicillin immediately formed. From the figure it can easily be derived that the original preparation contained 9% of penicillin. The crystals proved to contain radioactive sulfur.

Crystalline penicillin prepared synthetically was obtained for the first time by Professor DU VIGNEAUD and collaborators (*6*). One of the major problems in their work was that of isolating crystalline active material from a reaction mixture originally containing approximately 0.1% of active material. Previous to their work, extensive attempts by several laboratories to isolate or even to increase the activity had been so discouraging that many workers considered the activity to be due to some closely related compound. However, Professor DU VIGNEAUD and collaborators had almost immediate success with the method of countercurrent distribution and were able to isolate the pure crystalline material.

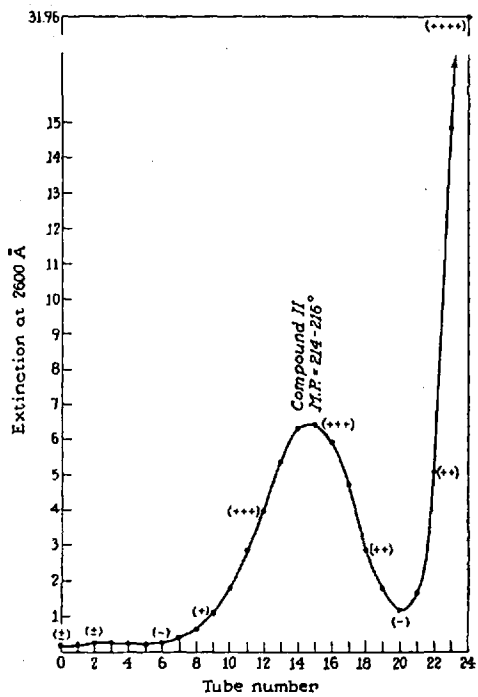


Fig. 6. Redistribution of material corresponding to that present in tubes 16 to 21 of Figure 5.

Application by TITUS and FRIED (*7*) of the method to the antibiotic streptomycin, resulted in the demonstration of a second and structurally different streptomycin. When applied to the antibiotic gramicidin, two new structurally different gramicidins were found. A considerable number of other instances could be mentioned.

Adsorption or chromatography is one of the best known methods of approach to the problem of isolating an active principle. Once a suitable adsorbent has been found, the problem is not difficult. The approach used for countercurrent distribution can aid in understanding the process (*8*). It can be assumed that the adsorbent is a solid phase which takes the place of the heavier phase in the series of separatory funnels. If an adsorbent and solvent is chosen so that about half the solute is adsorbed from the solution, the conditions are met for easy application

of the binomial principle. The solvent in one stage can be transferred to the next stage by decantation. An ion exchange resin can be treated likewise.

The effect obtained from a continuous column in producing a separation of two components can be shown by plotting a curve of concentration versus fraction of solvent in the effluent. This curve can then be compared with the effect calculated by assuming a certain number of discrete stages in a series as described. Thus a length of the column corresponding to a theoretical stage can be derived. This is essentially the approach used by MARTIN and SYNGE (*9*) in their outstanding work on chromatographic separations. The conditions in a chromatograph are more nearly ideal for a countercurrent process than any of the other separation processes. In liquid-liquid extraction the time required to reach equilibrium conditions would appear to be a definite limiting factor.

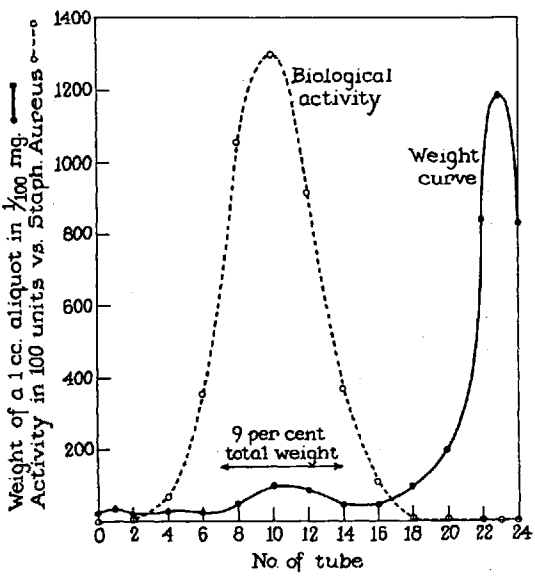


Fig. 7. Distribution of crude penicillin between ether and buffer.

For countercurrent distribution to operate most successfully, the partition isotherm must be nearly linear, i. e., the ratios must not change too much with varying concentration. Hence dilute solutions, of the order of a few per cent or less, are usually required. Here solute interaction is less pronounced. Similarly, with chromatography sharp bands are obtained when the adsorption isotherm is nearly linear over the concentration range of operation. Chromatography and liquid-liquid countercurrent extraction are closely related separation processes as has been so well shown by the studies of MARTIN and SYNGE. In their work suitable adsorbent media have been found for substances of high polarity, such as amino acids, by trying to provide a system in which liquid-liquid extraction plays a dominant role while adsorption plays a secondary role.

Fractional distillation and fractional crystallization processes can also be interpreted in terms of the binomial series although with the

former, the whole process is considerably more involved because here the principle of reflux always must be taken into account.

When the experimental difficulties involved in using the various fractionation processes at our disposal are considered with respect to the possibility of manipulating them so that they approach the ideal as nearly as possible, two of them, and perhaps ion exchange, definitely offer the greatest promise. These are liquid-liquid extraction and adsorption. Adsorption frequently brings about transformations with very labile substances. This includes many of the active principles in biochemistry. Also adsorption often requires extreme dilution in order to reach a zone of linear adsorption isotherm. Adsorption does not require elaborate equipment. On the other hand, liquid-liquid extraction does require considerable mechanical precision and equiment. However, it offers the mildest of conditions and is the least likely to bring about transformation when the proper system is chosen. In general, it permits the use of higher concentrations without disturbing the partition ratios too greatly. We can anticipate that chromatography and countercurrent liquid-liquid extraction used as tools supplementary to each other will be our most important methods for separating the more complex mixtures of biochemistry. Ion exchange resins also offer promise for polar substances.

Bibliography.

1. WILLIAMSON, B., and L. C. CRAIG: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. V. Calculation of Theoretical Curves. J. biol. Chem. **168**, 687 (1947).
2. CRAIG, L. C., and O. POST: Apparatus for Countercurrent Distribution. Analyt. Chemistry **21**, 500 (1949).
3. SATO, Y., G. T. BARRY and L. C. CRAIG: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. VII. Separation and Estimation of Normal Fatty Acids. J. biol. Chem. **170**, 501 (1947).
4. HOGEBOOM, G. H., and L. C. CRAIG: Identification by Distribution Studies. VI. Isolation of Antibiotic Principles from *Aspergillus ustus*. J. biol. Chem. **162**, 363 (1946).
5. SATO, Y., G. T. BARRY and L. C. CRAIG: Distribution Studies. XI. Isolation of Benzylpenicillin Containing Radioactive Sulphur. J. biol. Chem. **174**, 217 (1948).
6. DU VIGNEAUD, V., F. H. CARPENTER, R. W. HOLLEY, A. H. LIVERMORE and J. R. RACHELE: Synthetic Penicillin. Science **104**, 431 (1946).
7. TITUS, O. E., and J. FRIED: Counter-Current Distribution Studies on Streptomycin: The Tautomerism of Streptomycin. J. biol. Chem. **174**, 57 (1948).
8. CRAIG, L. C., C. GOLUMBIC, H. MIGHTON and E. TITUS: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. IV. Use of a Solid Phase. Science **103**, 587 (1946).
9. MARTIN, A. J. P., and R. L. M. SYNGE: A New Form of Chromatogram Employing Two Liquid Phases. 1. A Theory of Chromatography. 2. Application to the Micro-Determination of the Higher Monoamino-Acids in Proteins. Biochem. J. **35**, 1358 (1941).

(Completed April, 1949.)

Dr. LYMAN C. CRAIG, Rockefeller Institute for Medical Research
New York. N. Y. U. S. A.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 302—311 (1949).

Countercurrent Distribution and Some of Its Applications.

II. The Concept of Purity in Biochemistry and Methods for Proving Purity.

By

LYMAN C. CRAIG.

With 9 Figures.

The classical approach of organic chemistry to the problem of purity has always been that of fractionation. A preparation has been regarded as "pure" if all attempts to fractionate it have failed to change its measurable properties. In fact, this viewpoint has recently been stated (*1*) to constitute the definition of a component in the thermodynamic sense of the phase rule. Irrespective of viewpoints, nearly all fractionation techniques are useful in purity studies.

Biochemistry deals with an enormous number of chemical compounds with widely differing properties. Some are gases, some are liquids and some are solids either crystalline or amorphous. Wide variation in stability is encountered. Obviously no single fractionation technique will be the most effective for the separation of each type. Since the determination of purity requires maximum separating power under conditions of complete stability, a choice of the most effective method must be made. Fortunately, the different methods often supplement each other and wherever possible, more than one method must be applied. Measurement of physical constants with adequate precision always must be done. Agreement of physical constants implies a degree of purity but is not vigorous proof that the substance is pure.

In order to choose the most effective fractionating technique we must know something of the nature of the compound; in biochemistry particularly, something of the stability of the solutes involved. Unquestionably many compounds of importance have such poor stability except in solution in a certain environment that they can never be crystallized or obtained free of solvent. Yet such a substance could cause a very specific biochemical response and it would therefore be of the greatest interest to know if such a response were caused by a single chemical individual or whether a collection of individuals were responsible for the effect. In such a problem countercurrent distribution offers possibilities.

A few years ago, a problem of this general character was encountered by us in studies dealing with synthetic antimalarial drugs. Unexpected toxicity was encountered in connection with the clinical study of a

particular drug. This raised the question of purity and we chemists were asked for reliable data to prove that we were not at fault in claiming a pure preparation. At the time no hatisfactory method existed for demonstrating purity since the properties of the compound did not permit the fractionation techniques available to be applied under favorable circumstances.

At the time, the most promising approach appeared to be that of a method which referred to the phase rule. Determination of time-temperature cooling curves is an admirable procedure if the substance is crystalline, is completely stable and crystallizes rapidly from its melt. None of the antimalarials studied possessed all these properties.

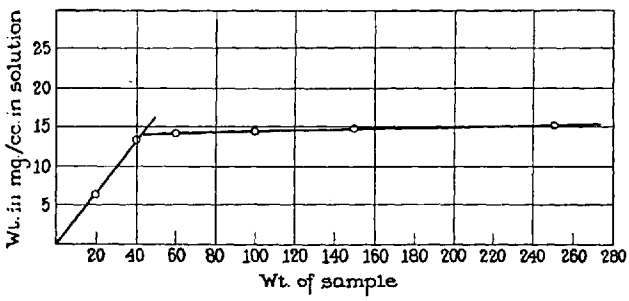


Fig. 1. Determination of purity by the solubility method of NORTHROP and KUNITZ.

An alternative approach is that of the solubility method of NORTHROP and KUNITZ (*2*). In this procedure, increasing amounts of the preparation are equilibrated with a constant volume of a solvent. The result is plotted as shown in Figure 1 which is an actual determination. The weight of solid which has dissolved is plotted against the weight of sample taken. When less solid than is required for saturation is used, a straight line corresponding to the first slope is obtained. At saturation a sharp break will be obtained if the substance is pure. Thereafter, further increase in amount of solid will not result in an increase in the amount dissolved and a straight horizontal line will result for the second part of the curve. In Figure 1 the curve showed a slope indicating impurity. From the slope the minimum amount of impurity present can be calculated.

Often the curve is not as simple to interpret as in Figure 1 and when impurity is indicated, two or more breaks in the curve may occur. In this case the presence of as many substances is indicated as there are breaks. Also a sharp break may not occur. Here a solid solution is indicated and the number of components present cannot be derived.

Proper interpretation of the curve requires that every point determined be a true equilibrium point. The curve therefore should be

approached from the supersaturated state as well as from the undersaturated state. If the substance is inherently slow to crystallize, it may not be possible to use the method.

Even if a single sharp break followed by a horizontal line should be obtained, this is no absolute guarantee of purity. An impurity may be capable of forming a solid solution and be present in a proportion which is near the proportion of solubility of the main component and the impurity. In this case, changing the solvent may reveal a shift. However, it must be remembered that fractional recrystallization from more than one solvent already has removed those components with widely differing solubility properties and only those impurities remain which are most likely to escape the solubility method. When the solubility method reveals impurity, the results are unequivocal. When it indicates purity, the preparation will be pure in by far the largest majority of cases, but the result may only indicate the futility of trying to purify the sample further by fractional recrystallization.

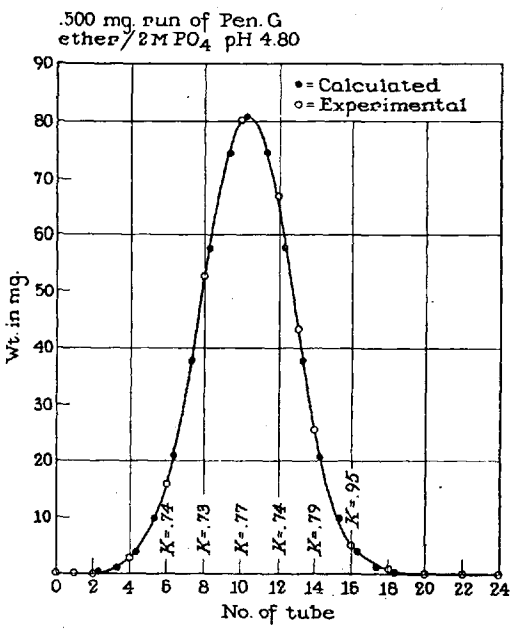


Fig. 2. Distribution of pure benzylpenicillin.

In our antimalarial work we were confronted with the problem of examining many preparations. The solubility method required too much time and also failed in many cases because of instability. We therefore turned to the use of extraction data.

Although extraction is one of the oldest procedures of organic chemistry, it is usually applied in such a manner that results only approximate in nature are obtained. Purity studies require quantitative data. Particularly in biological circles, it has been appreciated for some time that if enough cases are at hand, the results can be treated statistically and thereby greater precision achieved. Therefore, multiple extractions were performed in countercurrent manner so that the steps of the binomial expansion were exactly followed (see Fractionation Theory p. 292). This permitted the mathematics of probability to be applied in the

interpretation of the results (*3*). The name "Countercurrent Distribution" was given to the process and an apparatus was devised (*4*) whereby hundreds of nearly perfect individual extractions could be performed in an hour or more. The final result of the process could be most conveniently expressed graphically by plotting the fraction of solute in a given extraction cell against the serial number of the cell. This gave a pattern which with a single solute will exactly correspond to the normal curve of error as in Figure 2. Figure 2 is the pattern of an actual distribution made with a sample of benzylpenicillin (*5*). Since the curve is an averaged or statistical result, a considerable error in a single extraction is unimportant.

The requirements in order to accomplish a normal curve of error are the following: Two phases must be found in which the solute will distribute itself in approximately equal amounts upon equilibration. The partition ratio must be satisfied at every step. The phases must separate easily. The partition isotherm must be linear, i. e., the partition ratio must not be different with different concentrations of solute. Often the temperature must be held constant. The process is restricted to those cases where the partition ratio really is a constant. Each of the necessary factors can be checked separately or a distribution can be made and from the nature of the pattern it can be derived whether or not they have been met. If the experimental distribution agrees with the normal curve of error, it follows that the necessary conditions have been met and that the solute is a single substance or more than one substance with nearly identical partition ratios. If a deviation occurs as in Figure 3 (*6*) determination of the partition ratios of the solute in the individual tubes where deviation is shown, will decide if the cause is impurity.

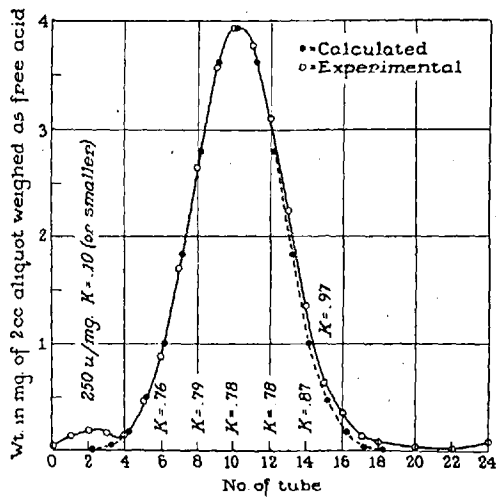


Fig. 3. Distribution of impure benzylpenicillin.

A gradual drift in the ratios as shown in Figure 3 definitely indicates impurity. Figure 3 is a distribution with a sample of benzylpenicillin which contains a few per cent of Δ^2-pentenylpenicillin. Experimental achievement of the curve of error indicates purity as far as the

method and the particular system is concerned though it alone is by no means conclusive evidence for purity. The result is analogous to a precise fractional distillation followed by an ebulliometric or boiling point study of each of the fractions. Or it is analogous to fractional crystallization followed by a phase rule study such as the determination of the solubility curve in the solvents used for the recrystallization. However, none of these methods absolutely excludes impurity but for practical purposes, if more than one of the procedures indicates purity or a curve of error is obtained in more than one entirely different system, then the preparation will be of high purity in by far the largest majority of cases.

With any method of fractionation, the degree to which a possible impurity can be excluded or the precision with which it can be revealed will depend upon the intrinsic separating power of the method. Separating power basically depends upon the selectivity of the method and the number of perfect transfers applied. A continuous fractionation process does not have discrete steps and must be interpreted in terms of the "equivalent of the number of perfect stages". Often this number is not constant. Stepwise extraction offers a process which can be made to operate at complete equilibrium and with any desired number of extractions. Assumptions are not required. The phenomenon corresponding to "constant boiling mixtures" is eliminated by working at sufficient dilution. The constant which determines the selectivity is the partition ratio. It is of importance, therefore, to understand the full significance of the ratio.

In more than one instance the partition ratio has been spoken of as depending on "solubility". This would appear to be quite erroneous as far as the type of partition ratio used in this connection is concerned. Only at the point of complete saturation of the solute in each phase will the partition ratio correspond to a ratio of solubilities. At concentrations below this, constant proportionality of the activity of the solute in the two phases will seldom be found. It would seem better to consider a partition ratio as a measure of the relative attracting tendency of two phases for a solute at a specified concentration. The basis of the ratio is therefore a subtle one and usually quite different from solubility.

In the technical literature of fractionation the selectivity of a particular extraction system is defined in terms of the ratio of the partition coefficients of two arbitrary solutes. This ratio is called β and equals K_1/K_2 in the particular system. A system in which β is large is a selective system for separating the mixture. Obviously this should be the system of choice for demonstrating impurity if the arbitrary solutes are closely related and are similar to the one on which the purity study is to be made.

In general, those systems will be the most selective in which there is the greatest contrast in the hydrophobic-hydrophilic solvent properties of the two phases concerned. Where the solute is an acid or base, buffers are especially helpful (7). As regards more subtle degrees of selectivity, no general rules can be offered. The choice must be based on experimental trial.

Once the selectivity of a system has been established, it is a simple matter to calculate the number of transfers required in order to detect

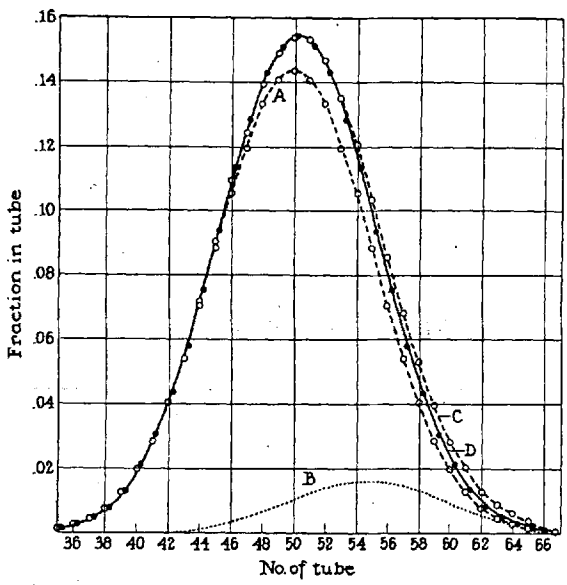


Fig. 4. (See Text.)

a given impurity or to exclude it to a given percentage. Hypothetical distributions such as Figure 4 bring out this point. Consider a mixture of 90% A, $K = 1$ and 10% B, $K = 1.2$, i. e., $\beta = 1.2$. The sum of A and B curves, the top curve, would differ sufficiently from the curve of error so that a few per cent of B in A could be detected with 100 transfers. This requires a few hours' time with our present equipment which includes a distribution apparatus with 54 cells (4). Two or even three times this number of transfers are within reach. Space does not permit further discussion of this type of calculation. The picture given here is that based on weight alone and weight is certainly the most inclusive analytical method as far as unknown mixtures as concerned. However, if a more specific method of analysis is at hand which can be combined with weight, then a few per cent of impurity with a ratio of 1.1 or even 1.05 can be detected.

The reliability of the distribution curve is increased greatly by employing more than one system. Even with closely related isomers or

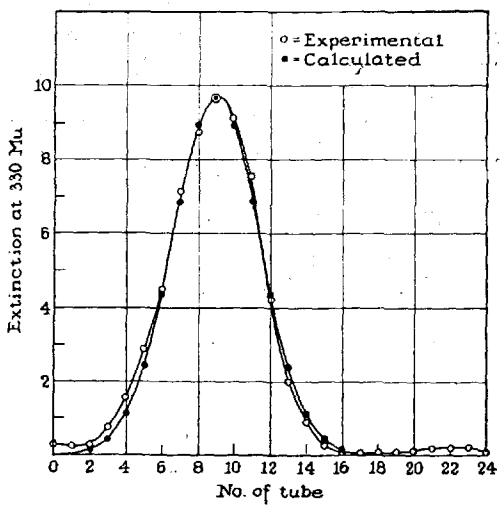


Fig. 5. Distribution of a good antimalarial preparation.

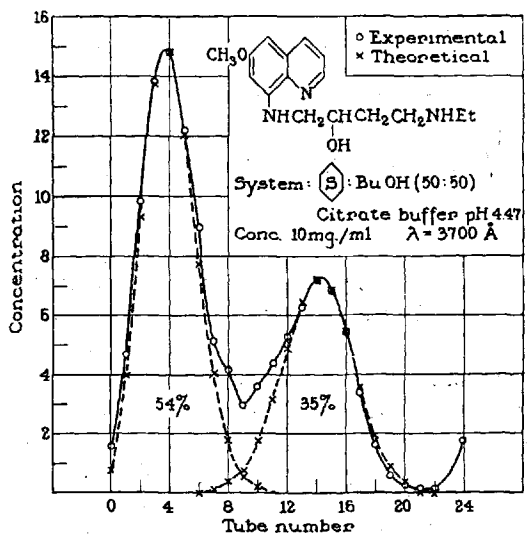


Fig. 6. Distribution of a poor antimalarial preparation.

homologs it has, in general, not been difficult to shift β values from 1.0 to 1.5 or more by changing systems. To be sure, optical isomers give β values below the experimental limit and cannot be separated or detected

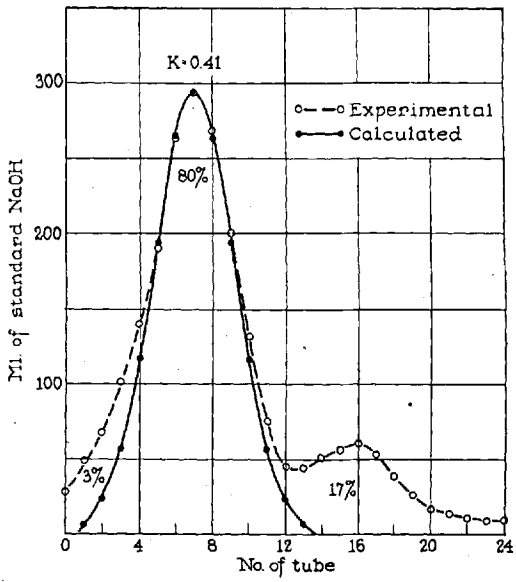


Fig. 7. Distribution of impure hexanoic acid.

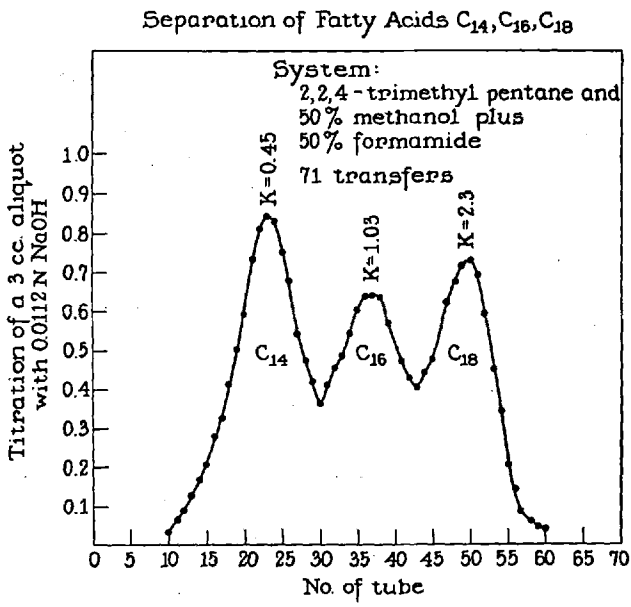


Fig. 8. Separation of three fatty acids.

by the method. On the other hand, chemical combination with other optically active solutes give diastereo-isomers which often have more favorable β values.

The reliability of the distribution pattern is also increased by the use of several different methods of analysis for determining a curve. If the compound gives a biological response, quantitative bio-assay should be used. A pure sample gives curves which are super-imposable regardless of the method of analysis employed.

If satisfactory selectivity is difficult to realize, it is possible to chemically transform the solute to another type which will offer greater selectivity. Valid data are often obtained in this way because of the quantitative nature of the distribution even in spite of inability to cause 100 per cent transformation.

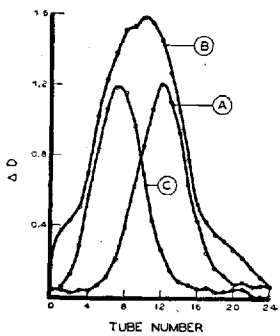


Fig. 9. Analysis of streptomycin preparations.

One could continue with generalities indefinitely. However, in the final analysis and in spite of all the theoretical aspects, a method for studying purity must receive prime consideration if it consistently reveals impurity in preparations where other methods have failed. Our studies thus far have been satisfying in this respect. From the very beginning the method proved useful in the antimalarial field (*8*). Figure 5 is a representative pattern of a good antimalarial preparation. Figure 6 is a poor one. Figure 7 is a purity study of a sample of hexanoic acid. Pentanoic and heptanoic acids or perhaps iso-acids are revealed. Figure 8 is a pattern determined on a mixture of equal parts of myristic, palmitic and stearic acids. The degree of separation and the usefulness of the method in purity studies in this series can be derived from the Figure.

The penicillin studies are of interest because these substances are known to be stable only under certain conditions. Yet they can be studied by distribution with adequate precision as Figures 2 and 3 have shown.

TITUS and FRIED (*9*) were able to demonstrate the occurrence of more than one streptomycin as shown in Figure 9. Their result is of especial interest because of the solubility properties of the streptomycin antibiotics.

Dr. BARRY, Dr. GREGORY and I have recently attempted the study of antibiotics of polypeptide nature and of higher molecular weight. Significant results have been obtained with the gramicidin-tyrocidine group. The work with bacitracin and subtilin is less advanced but here too there appears to be definite promise. Figure 1, page 314 shows a distribution of a crystalline preparation of gramicidin (*10*). At least four components are revealed. Three of these have now been isolated

and crystallized. Crystalline components of the tyrocidine type have also been obtained. The molecular weight of these substances is believed to be in the neighborhood of 3000.

Chromatography is one of our most potent tools for investigating purity because of its great separating power. The same viewpoint should be taken toward it as has been given for countercurrent distribution. It is a powerful separating tool when the adsorption isotherm is linear. Uniform packing of the column is important and a slow rate of flow is best. However, it is often difficult to obtain a linear adsorption isotherm. As far as the writer is aware, the most striking separation thus far reported by chromatography is a result of MOORE and STEIN (*11*) on a mixture of amino acids. The implications of such a separating power to purity studies are obvious.

Bibliography.

1. EYRING, H.: Philosophy of the Purity and Identity of Organic Compounds. Anal. Chem. **20**, 98 (1948).
2. NORTHROP, J. H., and M. KUNITZ: Solubility Curves of Mixtures and Solid Solutions. J. gen. Physiol. **13**, 787 (1930).
3. WILLIAMSON, B., and L. C. CRAIG: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. V. Calculation of Theoretical Curves. J. biol. Chem. **168**, 687 (1947).
4. CRAIG, L. C. and O. POST: Apparatus for Countercurrent Distribution. Anal. Chem. **21**, 500 (1949).
5. BARRY, G. T., Y. SATO and L. C. CRAIG: Distribution Studies. XII. Purity of Crystalline Penicillins. J. biol. Chem. **174**, 221 (1948).
6. CRAIG, L. C., G. H. HOGEBOOM, F. H. CARPENTER and V. DU VIGNEAUD: Separation and Characterization of Some Penicillins by the Method of Counter-Current Distribution. J. biol. Chem. **168**, 665 (1947).
7. — C. GOLUMBIC, H. MIGHTON and E. TITUS: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. III. The Use of Buffers in Counter-current Distribution. J. biol. Chem. **161**, 321 (1945).
8. — H. MIGHTON, E. TITUS and C. GOLUMBIC: Identification of Small Amounts of Organic Compounds by Distribution Studies. VIII. Purity of Synthetic Antimalarials. Anal. Chem. **20**, 134 (1948).
9. TITUS, E., and J. FRIED: The Use of "Counter-Current Distribution" for the Analysis of Streptomycin Preparations. J. biol. Chem. **168**, 3 3 (1947).
10. GREGORY, J. D., and L. C. CRAIG: Counter-current Distribution of Gramicidin. J. biol. Chem. **172**, 839 (1948).
11. MOORE, S., and W. H. STEIN: Partition Chromatography of Amino Acids on Starch. Ann. New York Acad. Sci. **49**, 265 (1948).

(Completed April, 1949.)

Dr. LYMAN C. CRAIG, Rockefeller Institute for Medical Research
New York, N. Y. U. S. A.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 312—324 (1949).

Counter-current Distribution and Some of Its Applications.

III. The Chemistry of Polypeptide Antibiotics.

By

LYMAN C. CRAIG.

With 10 Figures.

Shortly before 1939 DUBOS, working at the Rockefeller Institute, had the idea that soil bacteria could be found which would produce a principle active against gram positive bacteria. In exploiting this idea, he logically progressed to the isolation of a strain of bacteria, *B. brevis*, which did produce such a principle. Autolysates of cultures of these bacteria, when extracted with appropriate solvents, gave material which was active both *in vivo* and *in vitro*, as an antibiotic agent against certain organisms. He was joined in the study by HOTCHKISS (*1*). Soon a crystalline polypeptide was isolated which was a powerful antibiotic. It was called gramicidin. A crystalline antibiotic with distinctly different properties was also isolated which was called tyrocidine. Both unfortunately proved to have considerable toxicity to animals.

Considerable thought along the line of naturally-produced antibiotics had been given previous to this time. An instance of this is the now famous observation of FLEMING in 1929, that a strain of penicillium mold inhibited the growth of certain bacteria. Nonetheless, the isolation of gramicidin and tyrocidine appears to have been the scientific achievement stimulating the investigations which have produced the many valuable therapeutic antibiotics available to us today. The discovery of these substances has markedly changed the whole approach to chemotherapy and the problem of infectious diseases of bacterial origin.

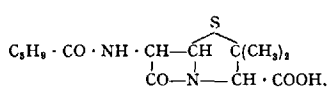
The majority of these substances may be considered unique polypeptides which contain unusual amino acids or amino acids joined in some unusual manner. Antibiotics now definitely known to be in this class are the penicillins (*2*), gramicidin (*1*), tyrocidine (*1*), gramicidin-S (*3*), bacitracin (*4*), subtilin (*5*), polymyxin (*6*), aerosporin (*7*) and others. The penicillins are produced by a mold. The others listed here are produced by related bacteria. Streptomycin is a very important antibiotic therapeutically but it does not belong to the polypeptide class, being a complex amino-sugar derivative.

Of the polypeptide antibiotics, the only complete structural formula so far established is that of the penicillins. In about 1942 the potential

importance medicinally of these substances became so great that the resources at the disposal of the United States and the British Government were pooled. The various research laboratories of many of the different drug companies also cooperated in an effort which perhaps was as extensive as any other structural study of its type in history. The full results of these studies will be available to us soon in the form of a book. A few of the major points of the study, those already published, will be discussed here.

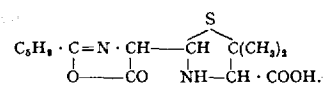
Most of the structural work was done with benzylpenicillin, $C_{16}H_{17}O_4SN_2Na$. It is a sodium salt. The free acid is a strong monobasic acid which has not been crystallized. It is unstable to acid or alkali and most stable in solution at a p_H of 6. The free acid is relatively stable in dry ether solution.

The accepted structural formula of benzylpenicillin is shown in formula (1).



(1)

A few of the many observations which led to this formula are the following: Hot acid hydrolysis gave phenylacetic acid, CO_2 and a unique amino acid which proved to be β,β-dimethylcysteine of the unnatural or *d*-configuration. Hydrogenation with RANEY nickel catalyst gave phenylacetyl-l-alanyl-d-valine. The sulfur was removed completely. At first it was thought that penicillin was an oxazolone-thiazolidine, formula (2).



(2)

This structure, however, would contain a basic group. Synthetic oxazolones of this type did not show antibiotic activity. Also infra red and X-ray data were in accord with a β-lactam structure.

In attempts to synthesize the oxazolone-thiazolidine of formula 2, by condensing the dimethylcysteine with the appropriate oxazolone, it was noted that the reaction products always showed a very low antibiotic activity though they had properties similar to penicillin. However, at first all attempts to concentrate the activity by various fractionation procedures, including chromatography, failed and it was doubted in many circles whether or not the activity could really be due to penicillin. This uncertainty was resolved by DU VIGNEAUD and co-workers (*8*) who employed the method of countercurrent distribution (see Chapter I), and were able to isolate a crystalline sodium salt from the mixture. This salt had full antibiotic activity and was identical in every respect with naturally-occurring benzylpenicillin. The synthetic acid was present in the reaction mixture at a concentration of only about 0.1%.

The synthesis represented a triumph in that this important therapeutic agent had been synthesized, yet because of the obscurity of the reaction mechanism, it could not be used as conclusive proof of the structure. Presumably a rearrangement from the intended oxazolone-thiazolidine had occurred.

The other naturally-occurring penicillins differ only in that other groups are substituted for the benzyl radical. These include the p-hydroxy-, benzyl-, n-amyl-, Δ^2-pentenyl-, and n-heptyl-groups.

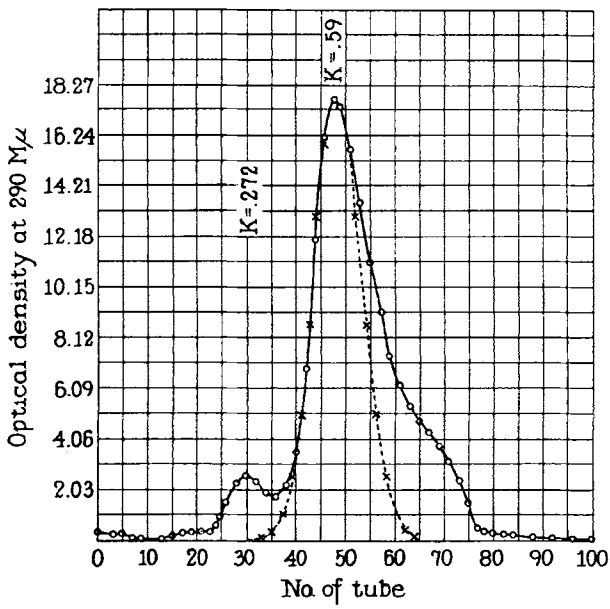


Fig. 1. Countercurrent distribution of gramicidin, showing at least four components to be present.

The antibiotics from *B. brevis* are of much higher molecular weight and presumably are of more complicated structure. Tyrothrycin was the original solid active material from the culture but it was soon shown to be a mixture. Gramicidin was crystallized from the mixture by the appropriate solvents. From the mother liquor tyrocidine was crystallized.

Gramicidin, on hydrolysis with acid, has been shown by the work of HOTCHKISS, SYNGE and others, to yield l-tryptophane, d-leucine, d,l-valine, l-alanine, l-glycine and ethanolamine. It has no acidic or basic groups and is therefore considered to be a cyclic peptide. The molecular weight is not settled but appears to be 3000 or greater. The appearance of ethanolamine is unusual. Perhaps it is only a fragment of a much larger molecule.

More recently we have taken up the study of the purity of crystalline gramicidin by the method of countercurrent distribution (*9*). It did not prove to be a single substance, as is shown by the distribution pattern in Figure 1. At least four gramicidins are revealed by this pattern, one

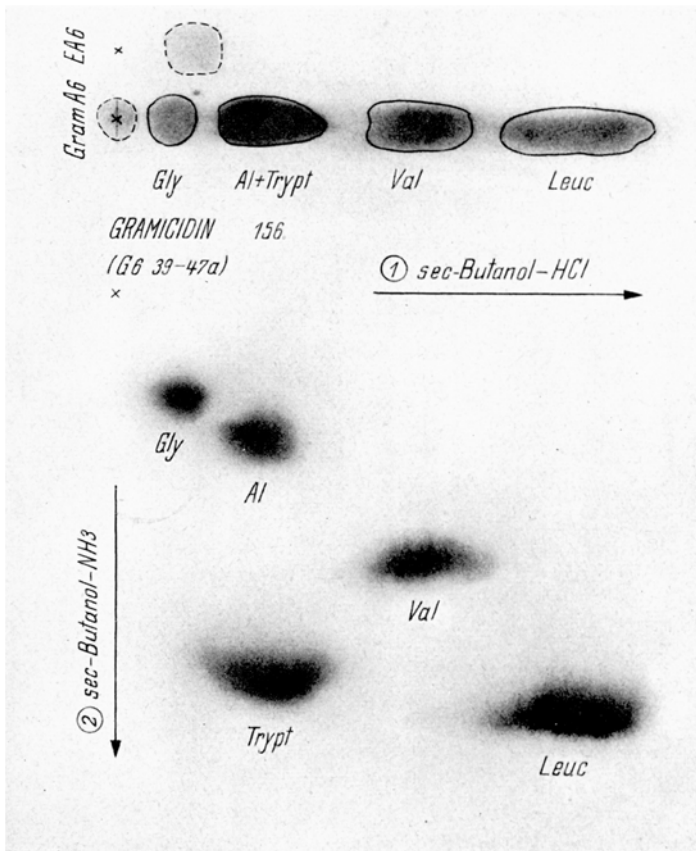


Fig. 2. Paper chromatogram of gramicidin A hydrolysate.

on the lett (gramicidin B), a major band in the central part (gramicidin A) and at least two or more in lesser amount on the right. Three of the gramicidins have been crystallized but there is very little of the crystalline one on the far right (gramicidin C) available. For an explanation of this chart and the principle of countercurrent distribution see Chapter I. In the case of Figure 1, the solvent system contained water, methanol, benzene and chloroform. The curves may be interpreted exactly like electrophoresis patterns.

Upon complete hydrolysis with acid, each of the three crystalline gramicidins proved to contain a different amino acid spectrum. In fact, the separation obtained in Figure 1 could easily be followed by taking a mg sample of the solid material in every third tube from Figure 1, hydrolyzing

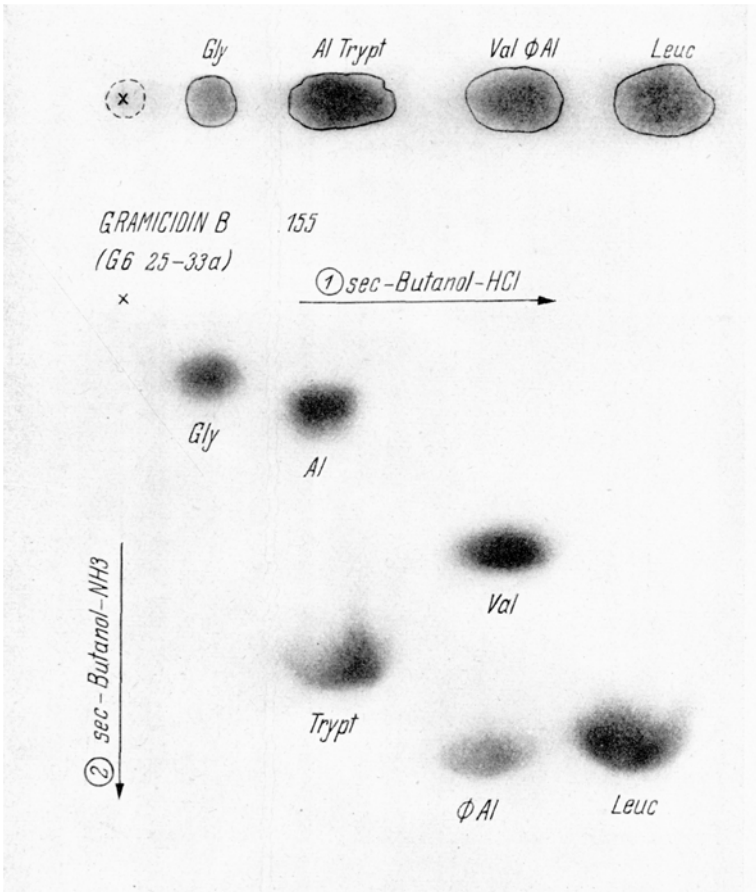


Fig. 3. Paper chromatogram of gramicidin B hydrolysate.

it and spotting a fraction of the hydrolysate on adjacent spots on a broad paper chromatogram according to the method of CONSDEN, GORDON and MARTIN (*10*). Gramicidin A showed good spots corresponding to tryptophane, leucine, valine, alanine and glycine as shown in Figure 2. Figure 2 is a so-called two dimensional paper chromatogram. Gramicidin B gave the chromatogram shown in Figure 3. Here there is an extra

spot corresponding to phenylalanine. Gramicidin C showed an extra spot corresponding to tyrosine but did not show phenylalanine.

Drs. MOORE and STEIN of the Rockefeller Institute have studied the quantitative amino acid content of gramicidins A and B by starch chromatography. Figure 4 is an elution curve of gramicidin A. Here the concentration is estimated by the sensitive ninhydrin color test. 93% recovery of the nitrogen is accounted for. It has not proven possible

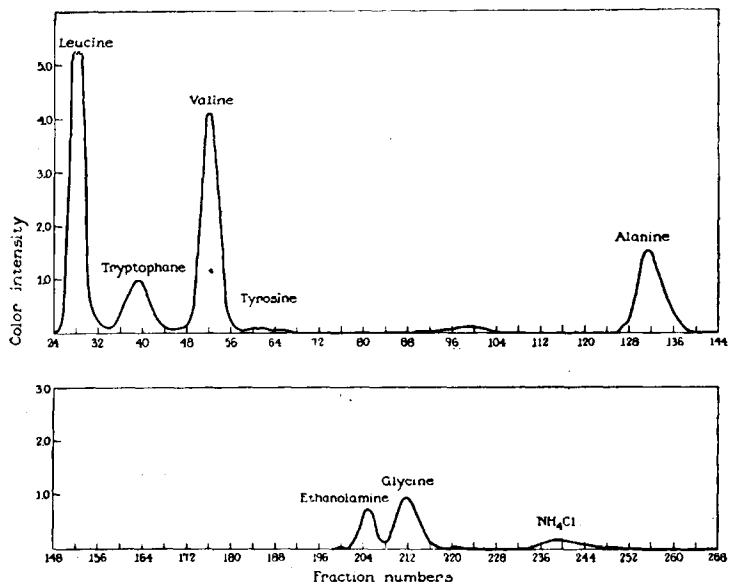


Fig. 4. Starch chromatogram of gramicidin A hydrolysate: elution curve.

to arrive at an amino acid empirical composition for the peptide with units smaller than $Trypt_{20}Leu_{20}Va_{17}Al_9Gly_5EtAm_4$ for gramicidin A and $Trypt_{18}PhAl_5Leu_{21}Va_{17}Al_{10}Gly_5EtAm_4$ for gramicidin B. These results would indicate a molecular weight in the neighborhood of 8700, assuming purity of the preparations of A and B, the correctness of the analytical data, complete hydrolysis etc. On the whole, this work points up the difficulty of working with substances of such high molecular weight.

We have investigated a somewhat milder hydrolysis of gramicidin by the method of countercurrent distribution with the result shown in Figure 5. Here more than 100-fold of the material for the hydrolysis is required as with the starch chromatogram but the pure amino acids can be isolated readily. The curve is a weight curve. Figure 5 reveals two bands whose nature is unknown. One contains the indole ring system because of its absorption spectrum. We will investigate these bands

further and also determine their rotation. Leucine and some of the valine is known to be of the unnatural or d-configuration.

As regards gramicidin, this report only shows the complexity of the problem in spite of statements in the literature to the effect that it is a pure polypeptide whose structure is nearly understood. The results are given mainly to show the manner of attack.

Countercurrent distribution studies with tyrocidine have similarly shown it to be a mixture. Moreover, distribution analysis of the crude tyrothrycin has revealed forms intermediate between gramicidin and

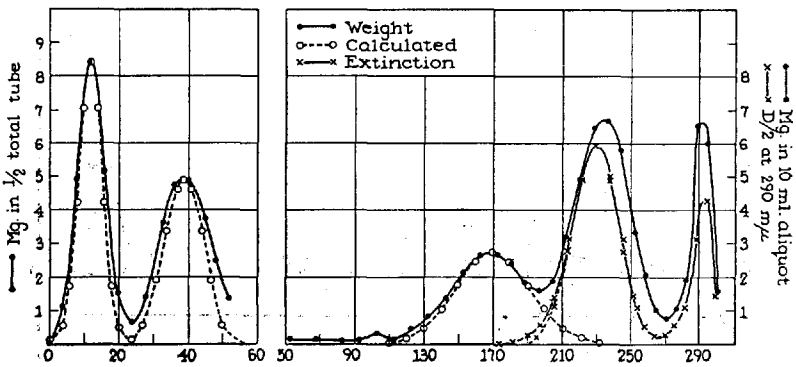


Fig. 5. Countercurrent distribution of gramicidin hydrolysate.

tyrocidine as far as partition ratio is concerned. All together tyrothrycin contains perhaps 10 or 12 different antibiotics each with a different amino acid spectrum.

Gramicidin contains no acidic or basic groups. Tyrocidine contains strongly basic groups due to ornithine residues. It can be isolated only as the hydrochloride. The crystalline mixture tyrocidine contains l-ornithine, l-proline, l-valine, l-leucine, d-phenylalanine, l-tryptophane, l-tyrosine, l-aspartic acid and l-glutamic acid (*11*).

Russian workers have isolated a different antibiotic of the tyrothrycin type and have named it gramicidin-S. According to SYNGE and co-workers, it contains l-ornithine, l-proline, l-valine, l-leucine and d-phenylalanine. Actually gramicidin-S is chemically more like tyrocidine than gramicidin since it is isolated as the hydrochloride and contains the strongly basic ornithine residue. A preparation obtained from a culture of the Soviet strain of organisms grown in the United States, has proven to be a mixture by countercurrent distribution. It did not appear to be identical with any of the fractions isolated by us from tyrothrycin.

Bacitracin is a promising antibiotic isolated from a strain of *B. subtilis* by JOHNSON, MELANEY and co-workers (*4*) in New York. It has

received considerable clinical attention but has not been crystallized as yet. Highly purified preparations have been supplied to us by the COMMERCIAL SOLVENTS CO. for study by the method of countercurrent distribution. The active principle is not stable under alkaline conditions but is more stable under acid conditions. Distribution of the material in sec-butanol/water acidified with acetic acid has given distributions similar to that shown in Figure 6. If the various fractions are assayed antibiotically, a band is obtained which agrees with the calculated curve

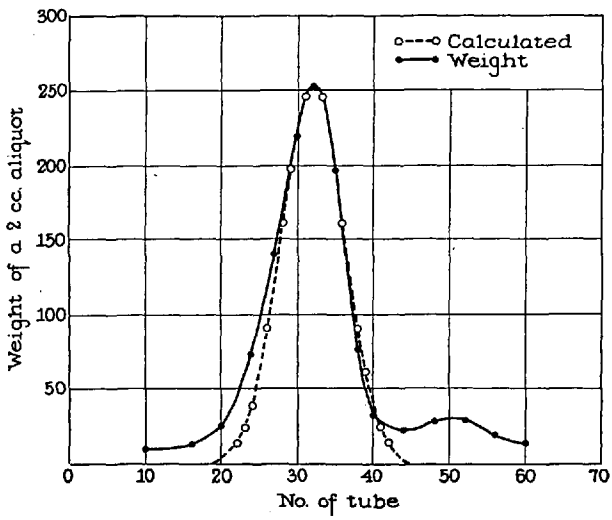


Fig. 6. Countercurrent distribution of bacitracin.

for the main band obtained by weight. This main band is a polypeptide which so far upon acid hydrolysis, has shown phenylalanine, leucine, isoleucine, valine, histidine, lysine, cystine, glutamic and aspartic acids and possibly ornithine aside from a few unusual amino acids or peptides.

The main band in Figure 6, upon redistribution, gives a single band. The active principle of bacitracin is therefore unquestionably a unique polypeptide of considerable complexity. A very unusual observation in our experience with the method of countercurrent distribution as applied to such materials is the fact that so far, only a single active band appears. Can it be that this organism produces only a single antibiotic? If not, this is the first instance where the distribution method has failed to reveal the presence of more than one active principle.

Subtilin is another polypeptide antibiotic produced by a different strain of *B. subtilis*. More than one antibiotic from this organism has been reported. We have not as yet studied this substance by countercurrent distribution, but paper chromatography has indicated that it

contains aspartic and glutamic acids, lysine, phenylalanine, leucine, alanine, glycine, valine + unidentified spots. It appears to be related to bacitracin but to be different with respect to at least two amino acids.

A strain of *B. polymyxa* produces an antibiotic which has been named polymyxin. A group of workers at the AMERICAN CYANAMID CO. have attempted to isolate it. They have gone far toward structure

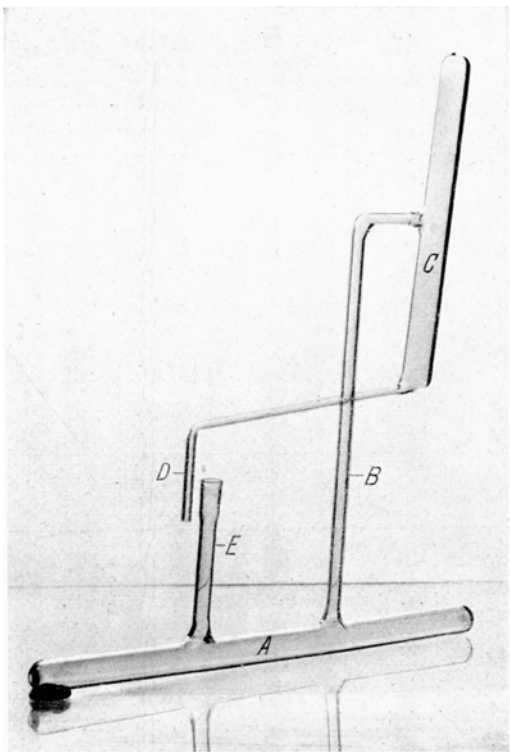


Fig. 7. Glass countercurrent distribution apparatus, separate unit.

elucidation in spite of the fact that the active principle has not as yet been crystallized. It is possible to know with fair certainty whether or not a single chemical individual is present by the intelligent use of chromatography and countercurrent distribution. Both of these approaches were used on polymyxin. Its molecular weight is approximately 1000—1100. On hydrolysis, four amino acids and a C_9 fatty acid were isolated. The amino acids proved to be d-leucine, l-threonine, d-serine and diaminobutyric acid. This latter is an unusual amino acid. The substance is basic with no free carboxyl groups. It is thought to be a cyclic peptide containing the amino acid residues in the amount of one leucine, three threonines,

one serine, five diaminobutyric acids and one C_9 acid residue. The C_9 acid residue is an acyl group attached to one of the basic groups of a diamino acid.

An English group of workers at BURROUGHS WELLCOME AND CO., INC. have isolated antibiotics from a similar bacillus and have called them aerosporins. They are polypeptides with related amino acid spectra but

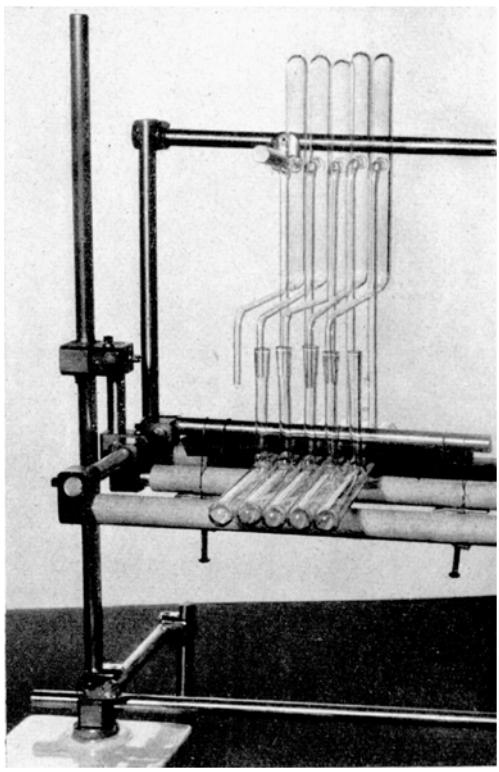


Fig. 8. Set of five units, mounted on a frame.

all contain diaminobutyric acid. None are identical with polymyxin. The major one apparently differs from polymyxin in that it lacks d-serine.

It is now apparent to us that a class of naturally-occurring organic compounds is coming rapidly into prominence largely because of the development of experimental techniques for studying them. They are complex polypeptides often containing unusual amino acids and known amino acids of the d- or unnatural configuration. The alkaloids of ergot were the first family in this very large class of natural products whose

structure was elucidated. As an example of the family ergotinine, on hydrolysis, gave lysergic acid, l-phenylalanine, d-proline, α-ketoisovaleric acid and ammonia.

Addendum.

Glass Counter-Current Distribution Apparatus.

This newer apparatus is a collection of separate units one of which is shown in Fig. 7. *A* is the equilibration chamber. The previously

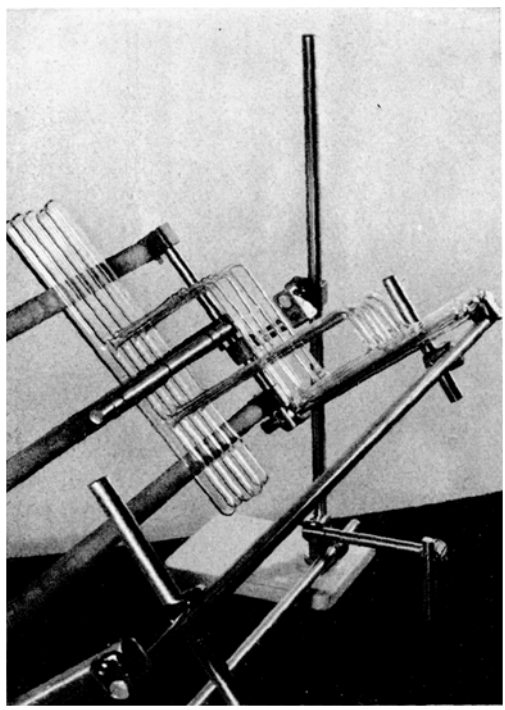


Fig. 9. Same set, tilted to an angle of 45°: equilibrating.

equilibrated phases are inserted through the opening *E*. Sufficient of the heavier phase is added so that upon tilting the unit lengthwise, a little more than 90°, the upper phase will decant through *B* into *C* but the heavier phase will remain in *A*. Upon righting the unit to its original position, the upper phase will flow out through *D*. When the unit is a member of a series as shown in Fig. 8, *D* is inserted into the opening *E* of the next unit. Therefore, the upper phase is transferred to the adjoining tube simply by a tilting movement.

The tubes may be mounted on a frame constructed from standard laboratory rods and clamps as shown in Fig. 8. One of the clamps

serves as a bearing to permit tilting of the units as shown in Fig. 9 and 10. The rods which come in contact with the glass are covered with rubber tubing to prevent breakage.

In actual operation, somewhat more than sufficient of the heavy phase (about 11 cm^3) is added to each tube. Tilting several times

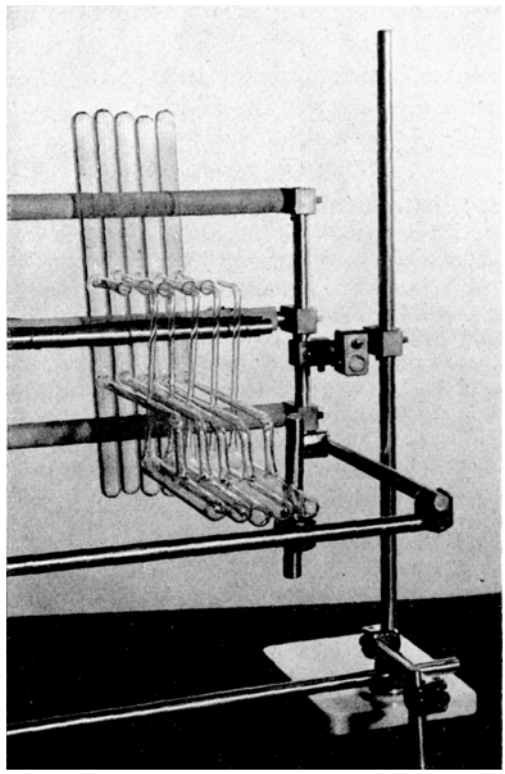


Fig. 10. Same set, tilted to an angle of >90°: transfer.

to 90° then automatically adjusts the first few tubes to the correc level since the excess is transferred. The tubes are numbered 0, 1, 2, ---n. An arbitrary volume of the upper phase together with the solute to be distributed is inserted at tube 0. In order to equilibrate, the tubes are tilted quickly to an angle of 45° as shown in Fig. 9, then immediately back to a 45° angle in the other direction. Ordinarily 20 such tilts are sufficient to reach equilibrium. The layers are permitted to separate while in the position of Fig. 9, then the upper layer is transferred by tilting slowly to position Fig. 10 and back to position Fig. 8. A fresh upper portion is added to tube 0 after each transfer. The operation is continued

until all the tubes have their compliment of both phases. At this point the fraction of solute in each unit may be determined or alternatively the operation may be continued by permitting the upper layer of the last unit of the series to flow out into a test tube which is appropriately numbered. A withdrawn series analogous to the elution series from a chromatogram is obtained by this method.

At present an apparatus containing 108 units is under study. It has proven satisfactory and soon will be enlarged to 216. The units of this apparatus each contain approximately 10 cm^3 of the heavy phase (A = 12 mm inside diameter; 30 cm in length).

Bibliography.

1. HOTCHKISS, R. D.: Gramicidin, Tyrocidine and Tyrothrycin. Advances in Enzymology IV, 153 (1944).
2. Committee on Medical Research, Office of Scientific Research and Development Washington, D. C., and Medical Research Council, London: Chemistry of Penicillin. Science **102**, 627 (1945).
3. CONSDEN, R., A. H. GORDON, A. J. P. MARTIN and R. L. M. SYNGE: Gramicidin-S: The Sequence of the Amino Acid Residues. Biochem. J. **41**, 596 (1947).
4. ANKER, H. S., B. A. JOHNSON, J. GOLDBERG and F. L. MELENEY: Bacitracin: Methods of Production, Concentration and Partial Purification, with a Summary of the Chemical Properties of Crude Bacitracin. J. Bact. **55**, 249 (1948).
5. JANSEN, E. F., and D. J. HIRSCHMANN: Subtilin—An Antibacterial Product of Bacillus Subtilis; Culturing Conditions and Properties. Arch. Biochem. **4**, 297 (1944).
6. STANSLY, P. G., R. G. SHEPARD and H. J. WHITE: Polymyxin: A New Chemotherapeutic Agent. Bull. Johns Hopkins Hospital **81**, 43 (1947).
   — and M. E. SCHLOSSER: Studies on Polymyxin: Isolation and Identification of Bacillus Polymyxa and Differentiation of Polymyxin from Certain Known Antibiotics. J. Bact. **54**, 549 (1947).
7. AINSWORTH, G. C., A. M. BROWN and G. BROWNLEE: Aerosporin, An Antibiotic Produced by Bacillus Aerosporus Greer. Nature **160**, 263 (1947).
8. DU VIGNEAUD, V., F. H. CARPENTER, R. W. HOLLEY, A. H. LIVERMORE and J. R. RACHELE: Synthetic Penicillin. Science **104**, 431 (1946).
9. GREGORY, J. D., and L. C. CRAIG: Counter-current Distribution of Gramicidin. J. biol. Chem. **172**, 839 (1948).
10. CONSDEN, R., A. H. GORDON and A. J. P. MARTIN: Qualitative Analysis of Proteins; A Partition Chromatographic Method Using Paper. Biochem. J. **38**, 224 (1944).
11. GORDON, A. H., A. J. P. MARTIN and R. L. M. SYNGE: The Amino Acid Composition of Tyrocidine. Biochem. J. **37**, 313 (1943).

(Completed April, 1949.)

Dr. LYMAN C. CRAIG, Rockefeller Institute for Medical Research
New York, N. Y. U. S. A.

Fortschr. chem. Forsch., Bd. 1, S. 325—416 (1949).

Über den Radikalzustand ungesättigter Verbindungen.

Von
EUGEN MÜLLER.

Mit 20 Textabbildungen.

Inhaltsübersicht.

Seite

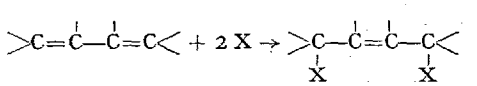
I. Einleitung und Problemstellung 326
II. Neuere Hilfsmittel zum Nachweis des Radikalzustandes 329
1. Zur Messung des Magnetismus nach der Zylindermethode von GOUY 330
2. Zur Messung des Magnetismus nach der Steighöhenmethode von QUINCKE 331
3. Hochfrequente Messung des Magnetismus 332
a) Meßprinzip 332
b) Aufbau des Meßsenders 332
c) Schwingspule des Meßsenders 333
d) Ableitung der Meßgleichungen 333
e) Ausführung der Messungen 334
4. Zur Messung des Paramagnetismus durch o,p-H_2-Umwandlung . . 335
III. Zur Theorie des Magnetismus von Kohlenstoff-Mono- und -Biradikalen 336
1. Monoradikale 336
2. Biradikale 338
IV. Kohlenstoffbiradikale 339
1. Biradikale von holatropen Diphenylen 340
a) Darstellung 340
b) Magnetisches Verhalten 341
c) Polymerisation 342
d) Optisches Verhalten 343
2. Biradikale von Γ-Paraffinen 345
a) Darstellung 346
b) Magnetisches Verhalten 348
c) Polymerisation 349
d) Optisches Verhalten 349
V. Kohlenstoffbiradikaloide 351
1. Biradikaloide von meratropen Diphenylen 351
a) p,p'-Bis-(diphenylmethyl)-2,2'-dimethyl-diphenyl 352
b) p,p'-Bis-(diphenylmethyl)-3,3'-dimethyl-diphenyl 355
c) p,p'-Bis-(phenyl-o-tolylmethyl)-diphenyl 356
d) p,p'-Bis-(phenyl-m-tolylmethyl)-diphenyl 356
2. Biradikaloide von Polyphenochinodimethiden 356
a) Polypheno-p,p'-chinodimethide 356
b) Polypheno-o,o'-chinodimethide 358
c) Polypheno-m,m'-chinodimethide 359
d) Zur Deutung des reaktiven Verhaltens der Chinodimethide . . 360
e) Azo-di-trityle 364

Seite
VI. Stickstoffmono- und Biradikale, Stickstoffbiradikaloide 365
1. Monoradikale 366
2. Stickstoffmonoxyd 366
3. Biradikale 367
4. Biradikaloide 368
a) Dipyridiniumverbindungen 368
b) Porphyrindin 369
VII. Biradikal, Biradikaloid, Biradikalett 370
1. Zur theoretischen Deutung und Begriffsabgrenzung 370
2. Formelübersicht 376
VIII. Singulett und Tripletterme von Biradikalen und Biradikaletts . . . 377
1. Zur Berechnung der Terme 377
2. Diskussion der Ergebnisse 378
3. Die p-H_2-Messungen 382
4. Die charakteristische Triplett-Anregungstemperatur Θ bzw. T/Θ . 384
IX. Der Triplettzustand als „Radikalzustand" ungesättigter Verbindungen 387
1. Magnetischer Nachweis des Triplettzustandes 389
2. Biradikalette als Träger photochemischer Reaktionen 390
a) Peroxydbildung 390
b) Photochemisch sensibilisierte Sauerstoffreaktionen 391
c) Polymerisation, Dehydrierung 394
3. Thermochromie ungesättigter Verbindungen 396
4. β-Phosphorescenz ungesättigter Verbindungen 397
a) Emissions- und Absorptionsspektren als $^1\Sigma \rightleftarrows {}^3\Sigma$-Übergänge . . 397
b) Analyse der $^3\Sigma$-Spektren ungesättigter Verbindungen 399
c) Ableitung der Biradikalette aus dem Periodensystem 404
X. Valenztautomerie oder Mesomerie? 405
XI. Schluß 410
Literatur 411

I. Einleitung und Problemstellung.

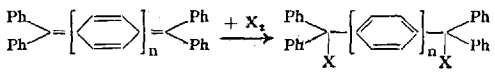
Das besondere Reaktionsvermögen ungesättigter Verbindungen ist des öfteren in der Entwicklung der Chemie Gegenstand eingehender Betrachtungen gewesen. Ja man kann sagen, daß die verschiedenen Versuche, zu einem umfassenderen Verständnis dieses reaktiven Verhaltens zu gelangen, den Stand unserer Erkenntnisse in historischer Folge widerspiegeln.

Ungesättigte Verbindungen, insbesondere solche, die zwei oder mehrere Doppelbindungen in konjugierter Folge enthalten, reagieren vielfach unter Aufnahme der Addenden an den Enden der Molekel:



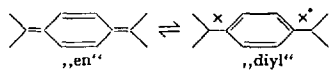
Wenngleich die Ansicht einer ausschließlichen endständigen Addition, wie sie z. B. J. THIELE annahm, auf Grund späterer, sehr eingehender Studien aufgegeben werden mußte und wir heute wissen, daß häufig daneben oder auch ganz überwiegend eine 1,2-Addition stattfindet, so bleibt doch in vielen Fällen die Tatsache einer endständig ablaufenden

Aufnahme des Reaktionspartners davon unberührt. Zum vorherrschenden Reaktionsprinzip wird die endständige Addition aber dann, wenn ein gekreuzt konjugiertes System von Doppelbindungen nach Art der Chinone oder Chinomethide vorliegt. So reagiert der THIELEsche Kohlenwasserstoff I oder die von TSCHITSCHIBABIN entdeckte Verbindung II stets dufch Aufnahme der Addenden an den Enden des konjugierten Systems.

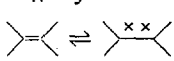


n = 1, THIELES Kohlenwasserstoff (I),
n = 2, TSCHITSCHIBABINS Kohlenwasserstoff (II),
Ph = Phenyl.

Im Zusammenhang hiermit beobachtet man eine zum Teil ganz außergewöhnlich gesteigerte Reaktionsfähigkeit (II ist gegen Luftsauerstoff äußerst empfindlich) und eine sehr intensive Farbigkeit (Oktatetraen: farblos, I: gelborange, II: tiefdunkel-violett), so daß es nahelag, Verbindungen dieser Art als Stoffe mit zwei freien Bindungen, also als Biradikale anzusprechen. Zum mindesten nahm man an, daß ein Gleichgewicht der normalen Doppelbindungsform (En-Form) mit der äußerst reaktionsfähigen Biradikalform (Diyl-Form) vorliegt:



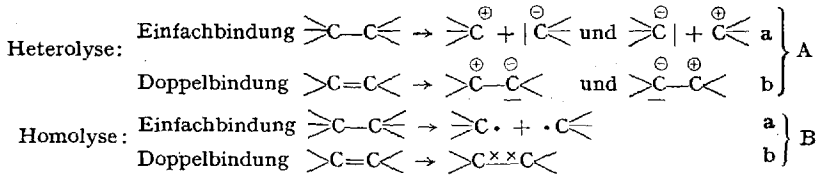
Schließlich wurde dieser Gedanke auf alle ungesättigten Verbindungen übertragen und vermutet, daß als Träger des besonderen chemischen und physikalischen Verhaltens dieser Stoffklasse eine am Gleichgewicht mehr oder weniger beteiligte „Diyl"-Form anzusehen wäre:



Läßt sich nun ein solcher *Radikalzustand ungesättigter Verbindungen* experimentell nachweisen, und wenn ja, in welchem Ausmaß ist er bei den verschiedenen Verbindungen vorhanden? Bevor wir eine Beantwortung dieser Frage an Hand des in dem letzten Jahrzehnt angesammelten Materials zu geben suchen, erscheint es angebracht, einen kurzen Blick auf die *Elektronenanordnung* solcher Stoffe zu werfen.

Jede Kohlenstoffdoppelbindung enthält neben dem die einfache Bindung herstellenden σ-Elektronenpaar noch ein π-Elektronenpaar mit einer von dem ersten Paar verschiedenen Symmetrie der Ladungsverteilung. Auf dieses π-Elektronenpaar, das man als wesentlich und maßgebend für das chemische und physikalische Verhalten von ungesättigten Verbindungen ansieht, lassen sich — mutatis mutandis — die an einer einfachen Atombindung gründlich studierten Erscheinungen der *Heterolyse* und *Homolyse* übertragen. Das bedeutet in dem einen

Fall das Auftreten polarer Grenzformen und im anderen Fall eine Ladungsanordnung, die an die Bildung freier Radikale erinnert.



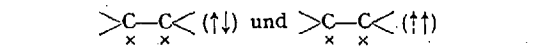
Zum Unterschied der Hetero- oder Homolyse einer Einfachbindung bleibt bei dem gleichen Vorgang *innerhalb* einer Molekel mit ein oder mehreren Doppelbindungen der Zusammenhalt der Molekel durch die immer noch vorhandene Einfachbindung gewahrt. Während also in dem Fall A, a räumlich getrennte Ionen entstehen, gehen aus A, b polarisierte Grenzanordnungen hervor. Das π-Elektronenpaar wird als Ganzes entweder von dem einen oder dem anderen C-Atom überwiegend beansprucht, so daß im Grenzfall die Bildung von Zwitterionen erfolgen kann. Mit diesem Fall, der nichts mit einer Radikalbildung zu tun hat, aber natürlich auch seine besondere Bedeutung für den Ablauf vieler Reaktionen ungesättigter Verbindungen hat, wollen wir uns hier nicht beschäftigen.

Anders liegt der Fall bei der Homolyse. Die Einfachbindung wird getrennt und es bilden sich freie Radikale. Überträgt man diese Vorstellung auf die Doppelbindung, dann könnte die Trennung der (π)-Bindung zwar auch zu freien Radikalen führen, die aber in einem sehr wesentlichen Unterschied zu den freien Radikalen der homolytischen Spaltung einer Einfachbindung immer noch durch eine σ-Atombindung in einer Molekel zusammengehalten werden. Nimmt man hier eine ähnliche „Vereinzelung" des π-Elektronenpaares an, wie sie in der obigen Formulierung wiedergegeben ist, dann ist die *Spinrichtung* der beiden *Einzelelektronen* (odd electrons) zu berücksichtigen, die entweder antiparallel $\uparrow\downarrow$ oder parallel $\uparrow\uparrow$ zueinander ausgerichtet sein können. Mit der Antiparallelstellung zweier Spinmomente ist normalerweise die Ausbildung der stabilen Atombindung verknüpft. Trotzdem wäre eine Formulierung mit „vereinzelten" Elektronen, aber antiparallelen Spins hier nicht gleichbedeutend mit der üblichen Formulierung einer ungesättigten Verbindung, was leicht am Beispiel des Butadiens einzusehen ist:

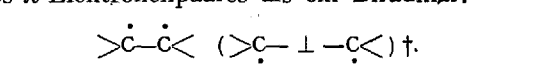
$H_2C{=}CH{-}CH{=}CH_2$ ($\uparrow\downarrow$), aber $\overset{\times}{C}H_2{-}CH{=}CH{-}\overset{\times}{C}H_2$ ($\uparrow\downarrow$) oder in anderer Schreibweise $\overset{\frown}{CH_2{-}CH{=}CH{-}CH_2}$

Die zweite Möglichkeit der Spinkombination führt zu einer Parallelstellung der Spinmomente, so daß man für diese beiden angeregten

Zustände, die als *Singulett-* und *Triplett*zustände bezeichnet werden, folgende Formeln aufstellen kann:



Der Zusammenhang der π-Elektronen in einer homolysierten Doppelbindung kann aber noch weiter gelockert werden. In der bisherigen Betrachtungsweise ist die stillschweigende Voraussetzung gemacht worden, daß die eine Doppelbindung herstellenden C-Atome der betrachteten Molekeln sich alle mehr oder weniger weitgehend in einer *Ebene* befinden. Ist nun z. B. infolge der „freien Drehbarkeit" um die C—C-Einfachbindung auch die Einnahme einer Lage möglich, in der die beiden Molekelhälften aufeinander *senkrecht* stehen, dann findet die denkbar geringste Beeinflussung der π-Elektronenteilsysteme der beiden Molekelhälften statt. Dieser Fall entspricht daher am weitgehendsten der Homolyse einer Einfachatombindung und verdient am ehesten die Bezeichnung „*Biradikal*". Es ist aber schon aus dieser flüchtigen Betrachtung ersichtlich, daß auch dieser Fall wegen des immer noch vorhandenen σ-Elektronenpaares nur eine weitestgehende Annäherung an den wahren Biradikalzustand darstellen kann, der exakt erst bei unendlicher Entfernung der beiden an der Doppelbindung beteiligten Atomkerne zu erreichen ist. Praktisch bezeichnen wir daher eine Verbindung mit einer derart räumlich festgelegten Vereinzelung des π-Elektronenpaares als ein Biradikal:



Die Existenz von Biradikalen erscheint somit theoretisch durchaus möglich, und es erhebt sich nun die Frage, wie man diese Verbindungen am besten nachweisen kann.

II. Neuere Hilfsmittel zur Charakterisierung des Radikalzustandes.

Seit der Entdeckung des ersten freien Radikals, des Triphenylmethyls, durch M. GOMBERG am Anfang dieses Jahrhunderts, weiß man, daß mit dem Auftreten des Radikalzustandes vielfach intensive Farbigkeit, hohes Reaktionsvermögen gegen Sauerstoff, Alkalimetalle, Halogene, NO, Assoziations- und Disproportionierungserscheinungen verbunden sind. Insgesamt findet man bei freien Radikalen eine auf allen Gebieten gesteigerte Reaktionsfähigkeit. Der praktischen Anwendung dieser Eigenschaften zum eindeutigen Nachweis und zu einer möglichst quantitativen Erfassung des Radikalzustandes stehen aber vielfach sehr erhebliche Schwierigkeiten entgegen. Beispielsweise versagt

† In Biradikalen werden die beiden Einzelelektronen durch Punkte • wiedergegeben. Sie sind keine π-Elektronen, die ihrerseits durch Kreuzchen × dargestellt werden. Vgl. S. 402.

die oft angewandte colorimetrische Methode (Ungültigkeit des BEERschen Gesetzes), wenn innermolekulare Umlagerungen sich rasch an den in Freiheit gesetzten Radikalen vollziehen, z. B. bei den o- und p-Tolyldiphenylmethylen u. ä. (*30*), (*36*), (*37*), (*38*), (*90*), ohne daß eine charakteristische Änderung der Farbe oder Molekelzahl eintritt. Auch die bei Monoradikalen oft mit Erfolg anwendbare Molekulargewichtsbestimmung muß bei den Biradikalen ebenso wie alle übrigen versagen, da sich die Zahl der Teilchen bei der Homolyse einer Doppelbindung *nicht* ändert.

Dagegen läßt sich aus den neueren Vorstellungen über den Bau der Atome und Molekeln ein methodischer Nachweis zur *Charakterisierung des Radikalzustandes* ableiten und mit Erfolg praktisch verwenden. Die Überlegung ist folgende: Zählt man die Elektronen der äußersten Schale aller Atome eines freien Radikals zusammen, so erhält man in jedem Falle eine *ungerade* Gesamtelektronenzahl:

$$\underset{7}{H_3C\cdot} \qquad \underset{25}{(CH_3)_3C\cdot} \qquad \underset{91}{(C_6H_5)_2C\cdot} \qquad \underset{175}{(C_6H_5\cdot C_6H_4)_3C\cdot}$$

Alle freien *Monoradikale* enthalten daher normalerweise *ein* in magnetischer Hinsicht nicht kompensiertes *freies* (odd) *Elektron*, das somit Anlaß zum Auftreten von Paramagnetismus geben könnte. Damit ergibt sich eine einfache Methode zum Nachweis des Radikalzustandes, nämlich die *magnetische Messung*.

Ähnlich, wenn auch nicht ganz gleichartig, liegt der Fall bei den *Biradikalen*. Ist eine „Vereinzelung" der beiden π-Elektronen gegeben, dann müssen sowohl der *Triplett* wie auch der *Biradikal*zustand wegen des Vorhandenseins magnetisch nicht kompensierter Elektronen *paramagnetisch* sein. Da die praktische Ausführung der magnetischen Messungen im allgemeinen wenig bekannt ist, seien hier einige Bemerkungen zu der Methodik als solcher gemacht (*51*), wobei auf die älteren und in der einschlägigen Literatur schon ausführlich beschriebenen Methoden nur kurz hingewiesen werden kann und nur eine neue, an einer wenig zugänglichen Stelle beschriebene Methode ausführlicher behandelt wird.

Von den älteren Meßmethoden werden vor allem zwei, die von GOUY angegebene und von PASCAL, WEDEKIND, KLEMM und MÜLLER benutzte Zylindermethode sowie die QUINCKEsche Steighöhenmethode angewandt.

1. Zur Messung des Magnetismus nach der Zylindermethode von GOUY.

Das Prinzip der GOUYschen Methode ist folgendes: Ein zylinderförmiger Meßkörper, meist ein mit der zu untersuchenden Substanz gefülltes, zylinderförmiges Meßröhrchen wird an einer Mikrowaage so aufgehängt, daß der Boden des Meßröhrchens in die Mitte zwischen den Polschuhen eines unter der Waage befindlichen Elektromagneten gelangt. Beim Erregen des Magneten wird ein inhomogenes

Magnetfeld erzeugt, in das eine paramagnetische Substanz hineingezogen, eine diamagnetische dagegen abgestoßen wird. Aus der scheinbaren Gewichtsdifferenz mit und ohne Magnetfeld läßt sich die gesuchte magnetische Suszeptibilität in einfacher Weise berechnen.

Bei paramagnetischen Stoffen setzt sich die gefundene Suszeptibilität aus dem paramagnetischen sowie dem stets vorhandenen diamagnetischen Anteil und einer meist zu vernachlässigenden Polarisation zusammen:

$$\chi_{gef} = \chi_{para} + \chi_{dia} + \chi_{\varrho}.$$

Die Kenntnis des diamagnetischen Anteils ist bei freien Monoradikalen aus einer gesonderten Messung der um ein H-Atom reicheren Verbindung zu gewinnen. Um diese zweite, zusätzliche Messung zu umgehen, haben PRECKEL und SELWOOD (*66*) nach einer Differentialmethode von FREED und KASPER (*21*) gearbeitet. Dabei nutzt man das dem oberen Feld des Magneten entgegengesetzte, gleiche Feld unterhalb der Polschuhmitte aus. Dementsprechend verwendet man längere Meßröhrchen, die in der Mitte zwischen den Polschuhen (Inhomogenität des Feldes gleich Null) einen zweiten Boden enthalten und in ihrem unteren Teil mit der Korrektursubstanz oder Lösung gefüllt werden (z. B. mit Triphenylmethan in Benzol bei Messung von Triphenylmethyl in Benzol). Dann tritt beim Erregen des Magnetfeldes eine Kompensation des diamagnetischen Anteils ein (die kleine Korrektur für ein H-Atom läßt sich rechnerisch aus dem bekannten Inkrement nachträglich anbringen) und das Meßergebnis liefert so direkt den von der Substanz herrührenden Paramagnetismus. Bei der Kleinheit der Effekte (1—1000γ) lassen sich so Fehler vermeiden, die sonst kaum zu umgehen sind. Die Fehlergrenzen der Meßmethodik betragen insgesamt 1—2%. Die Methodik ist unabhängig vom Aggregatzustand der zu untersuchenden Verbindung und auch bei tiefen oder höheren Temperaturen anwendbar.

Eine für manche Zwecke sehr geeignete Abänderung dieser Arbeitsweise hat L. MICHAELIS (*42*) angegeben. Durch ein magnetometrisches Differentialverfahren, auf das hier nur hingewiesen werden kann, gelingt es, auch einen zeitlich sich ändernden Paramagnetismus messend zu verfolgen.

Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß mittels der neuen, von E. JUSTI konstruierten, turbulent wassergekühlten Hochleistungselektromagnete, die sehr handlich sind, eine weitere Verbesserung dieser magnetischen Meßweise zu erwarten ist (*29*).

2. *Zur Messung des Magnetismus nach der* QUINCKE*schen Steighöhenmethode.*

Diese Methode kann nur zur Messung der Suszeptibilität von Gasen oder Flüssigkeiten benutzt werden. Da bei organischen Untersuchungen im wesentlichen Flüssigkeiten in Betracht kommen, sei deren Messung kurz angedeutet: In einem offenen oder geschlossenen Rohrsystem mit einem engen und weiten Teil befindet sich die zu untersuchende Flüssigkeit oder Lösung. Die Flüssigkeitsoberfläche im engen Rohr wird nun genau zwischen die Polschuhmitte eines Magneten (homogenes Feld) gebracht und die Höhenänderung beim Erregen des Magnetfeldes mittels eines Kathetometers auf $^1/_{10}$ mm abgelesen, woraus man in einfacher Weise die gesuchte Suszeptibilität berechnen kann. In neuerer Zeit haben M. F. ROY und C. S. MARVEL (*69*) den zur Messung nach QUINCKE erforderlichen Apparat so abgeändert, daß alle zur Darstellung der Substanz erforderlichen Manipulationen unter Luftabschluß geschehen können, ähnlich, wie dies schon früher vom Verfasser zusammen mit F. TESCHNER (*48*) für die Darstellung der Metallketyle angegeben war.

3. *Hochfrequente Messung des Magnetismus.*

Die beiden, oben kurz erläuterten Meßverfahren des Magnetismus haben für die Zwecke des organischen Chemikers den Nachteil, daß sie viel Substanz (1—5 g) erfordern, und daß eine einzige Messung $^1/_2$—1 Stunde dauert. Rasch veränderliche, kurzlebige freie Radikale sind so nicht zu messen. Gerade die Ausdehnung der magnetischen Messungen auf das Gebiet der instabilen, kurzlebigen freien Radikale der aliphatischen Chemie dürfte besonderes Interesse beanspruchen. Aus diesem Grunde haben F. W. SCHWENKHAGEN und K. GUTWILL (*23*) auf Anregung des Verfassers eine hochfrequente Meßmethode magnetischer Suszeptibilitäten ausgearbeitet.

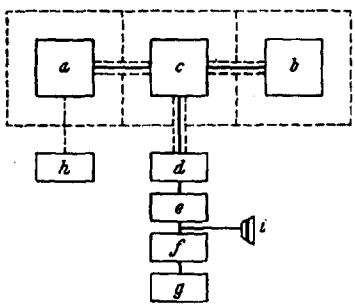


Abb. 1. Schema der Meßeinrichtung.

Durch den Krieg und seine Folgeerscheinungen war es bisher nicht möglich, diese Methode, die sich leicht noch vervollkommnen läßt, in größerem Umfang zur Bestimmung der magnetischen Suszeptibilität heranzuziehen. Trotzdem soll sie an dieser Stelle beschrieben werden, da die Originalstelle relativ schwer zugänglich ist und es im Interesse der Sache liegt, einen größeren Leserkreis auf dieses Verfahren aufmerksam zu machen.

a) Meßprinzip. Der zu messende Stoff wird in einem Glasröhrchen in das Innere der Schwingspule eines Hochfrequenzmeßsenders (Abb. 1, *a*) eingeführt, wobei sich die Induktivität der Spule (Änderung der Permeabilität des Spuleninnern) und damit auch die Frequenz des Meßsenders ändert. Zur Messung selbst werden diese, durch meist kleine Frequenzänderungen bedingten veränderten Schwingungen mit denen eines frequenzkonstanten, quarzgesteuerten Hilfssenders (*b*) zur Schwebung gebracht. Diese Schwebungsfrequenz, in der Größenordnung einer niedrigen Tonfrequenz, wird nach Gleichrichtung (*c*) verstärkt (*d*), durch eine Siebkette (*e*) von ihren Oberwellen befreit und mit einem nach dem Kondensator-Ladestromprinzip arbeitenden, unmittelbar anzeigenden Frequenzmesser (*f*) gemessen. Der Ladestrom wird in einer Kompensationsschaltung (*g*) kompensiert, so daß die Messung sehr geringer Frequenzänderungen möglich ist. Ein Maß für die Permeabilität und damit für die magnetische Suszeptibilität des zu untersuchenden Stoffes erhält man aus dem Verhältnis der Frequenzänderung zur Senderfrequenz (Grundfrequenz), multipliziert mit einer Gerätkonstanten. Die Meßsendergrundfrequenz ist durch die Frequenz des Quarzes des Hilfssenders gegeben. Die Ordnungszahl der zur Messung benutzten Oberwelle wird mit einem Wellenmesser (*h*) festgestellt (*i* Kopfhörer).

b) Aufbau des Meßsenders. Der Meßsender muß eine größtmögliche Konstanz der Meßfrequenz aufweisen. Da es sich bei diesem Sender um keinen quarzgesteuerten Sender handelt, sind eine Reihe von experimentellen Bedingungen möglichst weitgehend zu erfüllen, z. B. sehr stabiler Aufbau, sehr konstante Anoden- und Heizspannungen an der Senderöhre, eine sehr wirksame elektrische Abschirmung, eine möglichst hoch belastbare Röhre mit kleiner Anodenverlustleistung und Innehaltung einer möglichst konstanten Temperatur des gesamten Senders und seiner Umgebung. Sind diese Forderungen erfüllt, dann gelingt es,

den Sender so zu stabilisieren, daß erst in vielen Minuten eine Frequenzänderung in der Größenordnung von 1 Hz auftritt.

c) Schwingspule des Meßsenders (Abb. 2). Um ein Zylinderrohr aus isolierendem Material (*a*) ist eine dünne Kupferfolie (*b*) gelegt. Zur Vermeidung einer Kurzschlußwicklung ist die etwa 1 mm breite Überdeckung isoliert. An die Enden des Zylinders sind geschlitzte Kupferscheiben gelötet, die zusammen mit dem Kupferzylinder die in das Zylinderinnere eingeführten Stoffproben gegen das elektrische Feld der Spule abschirmen. Die Wicklung trägt ein weiterer zweiteiliger Zylinder (*d* und *e*), der über den Kupferzylinder geschoben ist. Die stabilen Spulenzuleitungen (*f*)

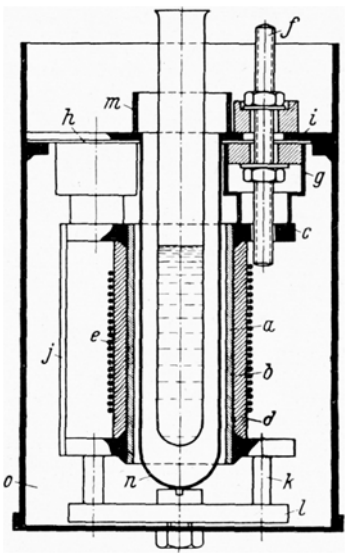


Abb. 2. Schwingspule des Meßsenders.

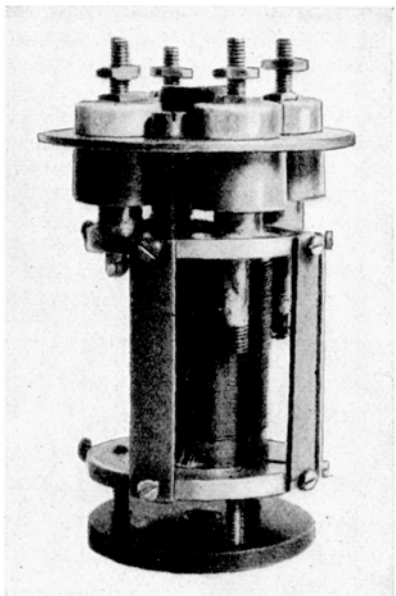


Abb. 3. Ansicht der Schwingspule.

sind abgeschirmt (*g*). Eine Isolierschicht (*h*) beseitigt die Gefahr, daß die Abschirmnäpfe (*g*) mit der oberen Randscheibe (*c*) und dem Gehäusedeckel (*i*) eine Kurzschlußwindung bilden. Zur mechanischen Versteifung dienen die Rippen (*j*) und die an den Spindeln (*k*) hängende Spannplatte (*l*). Durch diese Spulenkonstruktion ist genügend Sicherheit geschaffen, daß durch die in den Rohrstutzen eingeführten Glasröhren mit der zu messenden Substanz die Spule nicht verformt wird und keine unerwünschten Frequenzänderungen auftreten. Zur Vermeidung einer Temperaturänderung bei Einführung des Meßröhrchens ist in die Spule ein größeres Reagensglas *n* eingebaut, so daß die Luft im Raum (*o*) nicht bewegt wird (Abb. 3).

d) Ableitung der Meßgleichungen. Die Ableitung der Meßgleichungen kann hier nicht im einzelnen gebracht werden. Hierfür sei auf die zitierte Originalmitteilung hingewiesen.

Würde sich beim Einführen der Stoffproben in das Spuleninnere die Permeabilität allein ändern, also keine Einflüsse der Leitfähigkeit $\varkappa$ des Stoffes und der Dielektrizitätskonstanten ε auftreten, dann würde sich auch nur die Induktivität der Spule ändern. Dann besteht zwischen der relativen Induktivitätsänderung und

der dadurch bedingten Frequenzänderung die Beziehung $\frac{\Delta L}{L} = \frac{2\Delta f}{f}$. Infolge der statischen Abschirmung der Spule ist ein unmittelbarer Einfluß von ε und $\varkappa$ auf das elektrische Feld der Spule auch nicht vorhanden. Es bleibt jedoch ein sekundärer Effekt bestehen. Der durch die Stoffprobe hindurchgehende magnetische Fluß Φ erzeugt eine Umlauf-EMK: $E_{\max} = \omega \Phi$, die in der Stoffprobe einen Leitungs- und einen Verschiebungsstrom hervorruft. Es läßt sich abschätzen, daß unter Annahme eines homogenen Feldes und axialer Symmetrie die gesamten, durch ε und $\varkappa$ hervorgebrachten Durchflutungs- und damit Frequenzänderungen mit ω^2 wachsen. Zur Eliminierung dieses Einflusses muß man die durch Einbringen der Stoffproben erzielten Frequenzänderungen bei verschiedenen Grundfrequenzen des Meßsenders messen und dann die relative Frequenzänderung über dem Quadrat der Frequenz auftragen. Eine solche experimentell gefundene Kurve ist in der Abb. 4 wiedergegeben. Durch Extrapolation der Geraden nach $f = 0$ erhält man auf der Ordinatenachse den Wert $\frac{2\Delta f}{f} = \frac{\Delta L}{L}$, der nur noch auf die Änderung der Permeabilität zurückzuführen ist. Die Neigung der Geraden ist also ein Maß für die Größe jener Einflüsse. Weiterhin ist der Wert $\Delta L/L$ proportional dem eingeführten Stoffvolumen:

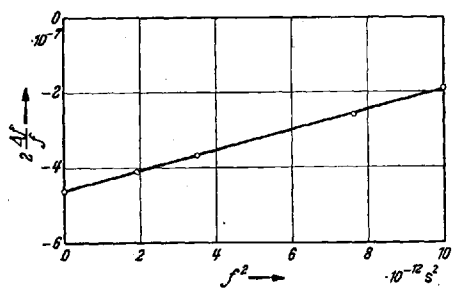


Abb. 4. Bestimmung von $\Delta L/L$.

$$\left|\frac{2\Delta f}{f}\right|_{f=0} = \frac{\Delta L}{L} = \frac{\Delta \mu}{\mu} \cdot k \cdot V$$

(k = Konstante der Meßeinrichtung, V = Volumen der eingeführten Stoffprobe. k wird durch Eichung mit Substanzen bekannter Suszeptibilität ermittelt.)

Es gilt ferner:

$$\frac{\Delta \mu}{\mu} = \mu_r - 1 = 4\pi \varkappa^*$$

(μ = Permeabilität, $\varkappa^*$ = Volumensuszeptibilität und m = Substanzmenge).

$$\varkappa^* = \frac{2\Delta f}{f \cdot k \cdot V \cdot 4\pi} \quad \text{oder mit} \quad k' = \frac{1}{k \cdot 4\pi}: \boxed{\chi = k' \frac{2\Delta f}{f \cdot m}}$$

e) Ausführung der Messungen. Sobald nach der Einlaufzeit des Senders das Wärmegleichgewicht erreicht ist, wird nach dem Zuschalten der übrigen Geräte der Meßsender so abgestimmt, daß der Schwebungston im Kopfhörer verschwindet. (Frequenzgleichheit von Meß- und Hilfssender.) Dann schaltet man den Frequenzmesser zu. Mittels seiner Hilfe wird die Schwebungsfrequenz auf etwa 100 Hz eingestellt und dann die Kompensationseinrichtung zugeschaltet, die bei den durchgeführten Versuchen auf etwa 0,05 Hz je Skalenteil abgeglichen war. Geringfügige Frequenzänderungen infolge äußerer Einflüsse können jederzeit durch einen parallel zum Abstimmkondensator des Meßsenders liegenden Feinstell-Drehkondensator ausgeglichen werden.

Dann führt man die auf die Temperatur des Säuleninnern gebrachte Meßprobe in einem Glasröhrchen, das an einem über eine Rolle geführten Faden hängt, in das Spuleninnere ein und wartet eventuell Wärmegleichgewicht ab. Das Röhrchen wird dann rasch herausgezogen und sofort wieder hineingesenkt. Dabei liest

man vor und nach dem Herausziehen sowie nach dem Wiedereinlassen die Frequenz ab. Nach Bildung des statistischen Mittelwertes aus einer Reihe solcher Messungen wird diese Messung noch bei zwei anderen Grundfrequenzen des Meßsenders ausgeführt, die sich etwa wie 1:1,5:2 verhalten. Die jeweils erhaltenen Werte $\frac{2\Delta f}{f} = F(f^2)$ werden graphisch aufgetragen und der Wert von $\frac{2\Delta f}{f}$ für $f = 0$ extrapoliert. So erhält man die für die weitere Auswertung erforderliche Größe $\Delta L/L$. Unter Heranziehung der Apparatkonstanten k und der Einwaage an Substanz erhält man schließlich die gesuchte magnetische Suszeptibilität. Jede Einzelmessung ist in 1 Sek. möglich. Mittels der oben beschriebenen Kompensationseinrichtungen kann man Frequenzänderungen von $^1/_{200}$ Hz noch ablesen. Bei der tiefsten bisher benutzten Meßfrequenz 1,3793 MHz liegt demnach die kleinste noch feststellbare relative Frequenzänderung unter $4 \cdot 10^{-9}$. Unter Verwendung einer Volumenprobe von 5 cm³ und einer Suszeptibilität der Größenordnung 10^{-6} liegt die erhaltene Frequenzänderung in der Größenordnung von 0,5 Hz. Die relative Meßunsicherheit der erhaltenen Frequenzunterschiede beträgt etwa 1%. Bei höheren Frequenzen steigt sie um das Doppelte, da infolge zunehmender Frequenzunbeständigkeit die Ableseunsicherheit auf etwa $^1/_5$ Skalenteil ansteigt. Die Unsicherheit der Konstante k beträgt etwa 1%. Die gesamte Meßunsicherheit dieses Verfahrens liegt bei Annahme einer Unsicherheit der Einzelwerte dieser Konstanten ebenfalls bei 1%, für die Suszeptibilität der Größenordnung 10^{-6} bisher bei $\pm$ 4%.

Durch Einbau der beiden Sender in einen Thermostaten lassen sich vermutlich die vorhandenen Frequenzschwankungen noch um eine Größenordnung herabsetzen. Mittels der Kompensationsschaltung des Tonfrequenzmessers müßte es dann möglich sein, die kleinstmöglichen Frequenzdifferenzmessungen um eine Zehnerpotenz zu verringern. Ferner hat man die Möglichkeit, durch Legen der Hilfssenderfrequenz in die Größenordnung von 0,5 MHz und der Meßsender-Grundfrequenzen in das Gebiet von 1—4 MHz, mit einem Quarz (durch dessen Oberwellen) mehrere Schwebungspunkte in einem normalerweise bestreichbaren Frequenzband zu erzielen. Ein Vorteil der Messung mit Oberwellen ist darin zu sehen, daß die erzielte Frequenzänderung entsprechend der höheren Frequenz der Oberwellen vervielfacht ist, während die Störeinflüsse von ε und $\varkappa$ nur die der Grundfrequenz entsprechende Größe haben. Durch Verwendung optischer Zeigerinstrumente und einer Differenzanordnung zur direkten Messung des Paramagnetismus (Gegenschalten) sollte es möglich sein, die Empfindlichkeit der Methode weiter zu steigern und sie zum Nachweis kurzlebiger Radikale verwendbar zu machen.

4. Zur Messung des Paramagnetismus durch o,p-Wasserstoffumwandlung.

Normaler Wasserstoff enthält auch bei tiefen Temperaturen Anteile an ortho- (parallele Kernspins) und para-Wasserstoff (Kernspinmomente antiparallel) im Verhältnis 3:1 (*9*). Eine Umwandlung $o\text{-}H_2 \rightleftharpoons p\text{-}H_2$ findet nur dann statt, wenn die Molekeln des $o\text{-}H_2$ und $p\text{-}H_2$ mit paramagnetischen Molekeln oder Ionen (X) zusammenstoßen.

$$p\text{—}H_2 + X \rightleftharpoons o\text{—}H_2 + X.$$

Die Umwandlung wird durch die Störung bewirkt, die die H_2-Molekel während des Stoßes im Magnetfeld des Stoßpartners erfährt.

Das *Prinzip der Meßmethode* läuft darauf hinaus, die durch den paramagnetischen Stoßpartner bewirkte Änderung des o,p-H_2-Gemisches festzustellen.

Zu diesem Zweck wandelt man sich chemisch reinen Wasserstoff durch Adsorption an Kohle in 45—50% p-H_2 um, dessen Gehalt an p-H_2 vor der Messung des Stoßpartners bestimmt wird. Hierzu dient die im Temperaturbereich von 100—200° K verschiedene spezifische Wärme von o- und p-H_2. Das Maximum dieser Differenz wird bei etwa 170° K erreicht. Die Bestimmung des Paramagnetismus wird daher mittels der verschiedenen Wärmeleitfähigkeit der beiden Kernspinmodifikationen o-H_2 und p-H_2 ermöglicht.

Zur *praktischen Bestimmung* des Paramagnetismus schüttelt man den p-H_2 mit der zu untersuchenden Lösung und vergleicht die Wärmeleitfähigkeit des in Reaktion gewesenen Wasserstoffs mit dem ursprünglich eingeführten Wasserstoff und dem als Ausgangsmaterial dienenden Gleichgewichtswasserstoff (*79*). Die gesuchte Umwandlungskonstante k erhält man dann aus der Schüttelzeit t (Stunden) und der gemessenen Widerstandsänderung:

$$k = \frac{1}{t} \cdot \lg \frac{\Delta W_0}{\Delta W}$$

und

$$\frac{\Delta W_0}{\Delta W} = \frac{W \text{ in Gleichgewichts-}H_2 - W \text{ in p-}H_2}{W \text{ in Gleichgewichts-}H_2 - W \text{ in } H_2 \text{ aus Messung mit X}}.$$

Die gesuchte Konzentration an dem paramagnetischen Stoßpartner folgt aus der Beziehung:

$$\boxed{k = (a \cdot c_R + b) \frac{\beta \cdot v_{fl}}{v_B - (1-\beta) v_{fl}}},$$

worin b: Konzentrationsänderung des p-H_2 durch das Lösungsmittel, β: Verteilungskoeffizient des H_2 zwischen Gas und Lösungsmittel, v_{fl} und v_B Versuchskonstanten (Volumina).

a: $2{,}6 \cdot 10^{-2}$ Konzentrationsänderung für Konzentration des paramagnetischen Stoßpartners 1 mM/l.

Zum Unterschied von den anderen besprochenen Methoden, die auf einer störungsfreien Messung von Gleichgewichten beruhen, handelt es sich bei der p-H_2-Methode um eine kinetische, die zu ihrer völlig sicheren Anwendung die Kenntnis der Vorgänge beim Zusammenstoß der Reaktionspartner erfordert. Für bestimmte Untersuchungen erscheint diese Methode sehr geeignet, so daß es sich lohnen dürfte, die theoretische Grundlage der Methode sowie ihre Handhabung weiter auszubauen und zu sichern.

III. Zur Theorie des Magnetismus von Kohlenstoff-Mono- und Biradikalen.

1. Monoradikale.

Zum Verständnis des Magnetismus von Biradikalen erscheint es notwendig, das magnetische Verhalten von Monoradikalen zuerst näher zu betrachten.

Wie wir im vorangehenden gesehen haben, enthalten freie Monoradikale normalerweise ein in magnetischer Hinsicht nicht kompensiertes, „freies" Elektron, das den Anlaß zum Auftreten von Paramagnetismus gibt. Im Grundzustand dieser Verbindungen ist das resultierende Gesamtspinmoment $S = {}^1/_2$ und aus der Beziehung $m = 2S + 1$ (m = Multiplizität) folgt demnach $m = 2$, d. h. es liegt ein Dublettterm vor. Nach unseren systematischen Untersuchungen (*44*) an freien Radikalen ist mit hoher Wahrscheinlichkeit ein Σ-Zustand vorhanden, d. h. das Bahnmoment bzw. seine Projektion in Richtung der Molekelachse ist Null. Das gesamte magnetische Moment wird daher nur von dem Spinmoment bestimmt. Der mechanische Wert des letzteren ist $\sqrt{S(S+1)} \cdot \frac{h}{2\pi}$, der magnetische $\sqrt{4S(S+1)}\,\mu_B$, (μ_B = BOHRsches Magneton). Mit $S = {}^1/_2$ wird somit das mechanische Moment

$$\sqrt{\frac{1}{2}\left(\frac{3}{2}\right)} \cdot \frac{h}{2\pi} = \frac{1}{2}\sqrt{3} \cdot \frac{h}{2\pi}$$

und *das magnetische Moment*

$$\boxed{\mu = \sqrt{4 \cdot \frac{1}{2}\left(\frac{3}{2}\right)}\,\mu_B = \sqrt{3}\,\mu_B = 1{,}73 \ldots \mu_B}.$$

Dieser Wert wird bei Monoradikalen in einer ganzen Reihe von Fällen erreicht. Das CURIE-WEISS-Gesetz $\chi_P\,(T - \Delta) = C$ ist weiterhin mit so kleinen Δ-Werten erfüllt, daß man nahezu von einer Gültigkeit des CURIEschen Gesetzes sprechen kann. Dies steht mit der Annahme eines Σ-Zustandes in ausgezeichneter Übereinstimmung.

Freie Radikale besitzen demnach als *Grundzustand* einen

$$\boxed{{}^2\Sigma_{\frac{1}{2}}\text{-Term}}.$$

Die Molsuszeptibilität eines Monoradikals beträgt bei 293° K $\chi_P = + 1280 \cdot 10^{-6}$. Einige Beispiele mögen dies verdeutlichen (s. Tabelle 1).

Alle bisher untersuchten freien organischen Monoradikale fügen sich widerspruchsfrei diesen Gesetzmäßigkeiten. Diese Gesetzmäßigkeiten gelten übrigens nicht nur für Kohlenstoffmonoradikale, sondern auch für andere von C verschiedene „Radikal"atome (vgl. S. 336). In Anbetracht der Schwierigkeiten der Messung an zum Teil festen Stoffen

Tabelle 1. *Magnetismus freier Monoradikale.*

Substanz (fest)	$-\Delta°$	μ_{eff}
Tri-p-xenyl-methyl (*44*)	18	1,75
Pentaphenyl-cyclopentadienyl (*46*)	12	1,72
Tetramethyl-p,p'-diamino-benzophenon-kalium-ketyl (MICHLERS Ketyl) (*52*)	2	1,70

kann man von einer vorzüglichen Übereinstimmung von Theorie und Experiment sprechen.

Abschließend läßt sich feststellen, daß man in der *Bestimmung des Magnetismus und seiner Temperaturabhängigkeit* bei *Monoradikalen* ein ganz einwandfreies Hilfsmittel besitzt, um die Radikalnatur einer Verbindung zu ermitteln. Da die Methode unabhängig vom Aggregatzustand der zu untersuchenden Verbindung ist, bei allen zugänglichen Temperaturen ausgeführt werden kann und auf jede radikalische Verbindung anspricht — im Gegensatz etwa zur Sauerstoffreaktion —, ist die magnetische Methode des Radikalnachweises bei dem heutigen Stand unserer Erkenntnisse allen anderen Methoden weit überlegen.

Es sei noch bemerkt, daß auch bei den im Σ-Zustand befindlichen Radikalen eine Kopplung des Spinmoments an die Molekelachse angenommen werden muß. Diese Kopplungsenergie ist aber bei Σ-Termen so klein, daß sie schon bei ganz geringen Absoluttemperaturen überwunden wird und demnach bei allen zugänglichen Temperaturen die bekannten freien organischen Radikale sich in dem Σ-Zustand befinden.

2. *Biradikale.*

Übertragen wir die an Monoradikalen gefundenen Erkenntnisse auf Biradikale, mit anderen Worten, sehen wir in den *Biradikalen* sozusagen *„doppelte" Monoradikale*, dann wird man ad hoc von einem solchen Stoff erwarten können, daß er ebenfalls wie die Monoradikale paramagnetisch ist. Die beiden „vereinzelten" π-Elektronen sind soweit wie möglich unabhängig voneinander. Man hätte demnach im Grundzustand je π-Elektronenteilsystem mit einem resultierenden Spinmoment $S = 1/2$ zu rechnen und könnte die Gültigkeit des Curiegesetzes erwarten, so daß in einem Biradikal der Duplett-Term $^2\Sigma_{\frac{1}{2}}$ 2mal vorhanden wäre. Die paramagnetische Suszeptibilität wäre dann doppelt so groß wie bei einem Monoradikal $\chi_P = +\,2 \cdot 1280 \cdot 10^{-6} = +\,2560 \cdot 10^{-6}$, und wegen der Proportionalität von $\chi_P \sim \mu^2$ müßte das *Gesamtspinmoment eines Biradikals* $\sqrt{2}$ mal so groß sein, also

$$\boxed{\mu = \sqrt{2} \cdot \sqrt{3}\ \mu_B = \sqrt{6}\ \mu_B = 2{,}45 \ldots \mu_B}$$

betragen (*58*).

Aus den im ersten Kapitel erläuterten Verhältnissen bei der Homolyse einer C=C-Doppelbindung läßt sich aber schließen, daß noch irgendwelche zusätzlichen *sterischen Effekte* für die Existenz der Biradikale notwendig sind. Daher wird man erwarten können, daß die magnetische Methode zum exakten Nachweis des Biradikalzustandes *allein* noch nicht ausreicht und eine zusätzliche Untersuchung zur Feststellung des sterischen Effektes erforderlich ist. Wir kommen hierauf später zurück (S. 343).

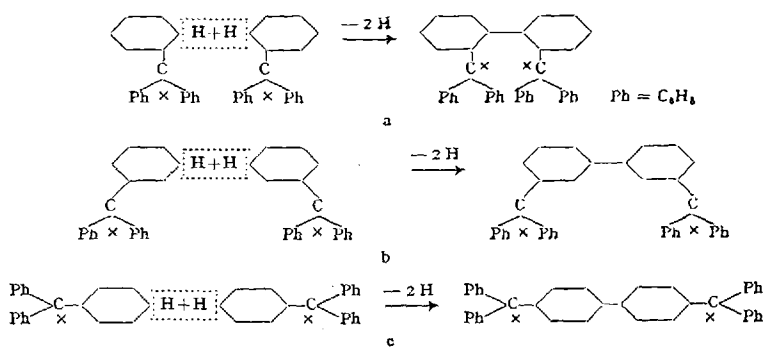
Es bleibt noch der Fall zu erörtern, in dem die vereinzelten Elektronen *parallele Spinmomente* haben. In einem solchen Fall addieren sich die Quantenzahlen zu 1 ($S = 1$) und man erhält daher für eine *Molekel* im *Triplettzustand* ein *magnetisches Gesamtspinmoment* von

$$\mu_B = \sqrt{4 \cdot 1\,(1+1)}\,\mu_B = \sqrt{8}\,\mu_B = 2{,}83\ldots\mu_B .$$

Ein Beispiel dafür ist der *Sauerstoff*. Er ist paramagnetisch, gehorcht dem Curie-Gesetz und liefert einen Magnetonenwert von $2{,}83\,\mu_B$. Der Grundzustand der Sauerstoffmolekel ist daher ein Triplettzustand (vgl. hierzu S. 371, 401). Die Entscheidung, ob ein Triplettzustand oder ein Biradikal vorliegt, ist — jedenfalls theoretisch — einfach in solchen Fällen zu treffen, in denen eine 100%ige monomere Molekel vorliegt. (Größe des Spinmoments!) Wie die Dinge aber in Wirklichkeit liegen, darüber soll nun anschließend berichtet werden.

IV. Kohlenstoffbiradikale.

Wie ein geeignetes Triarylmethylsystem die physikalischen und chemischen Eigenschaften eines Monoradikals widerspiegelt, so müßte man durch entsprechende Verbindung zweier solcher Triarylmethylsysteme zu einem Biradikal, also einem verdoppelten Monoradikal gelangen. Beispielsweise könnte man daran denken, durch Fortnahme je eines H-Atoms aus einem der aromatischen Ringe eines Trityls und Verbindung der übrigbleibenden Reste ein Biradikal zu gewinnen. Führen wir dieses Gedankenexperiment aus, so erhält man wegen der Möglichkeit einer symmetrischen Verknüpfung in ortho-, meta- oder para-Stellung drei verschiedene Stofftypen:



Der Fall a, die Bildung eines *ortho-Biradikals*, kann in unserer Betrachtung ausscheiden. Trotz aller Bemühungen findet man bei entsprechenden Versuchen niemals das Biradikal, sondern sein „inneres Dimerisierungsprodukt", das 9,10-Dihydrophenanthren (vgl. S. 358).

Die räumlich zu enge Nachbarschaft der beiden „freien Bindungen" scheint die Existenz solcher ortho-Biradikale unter diesen Bedingungen auszuschließen.

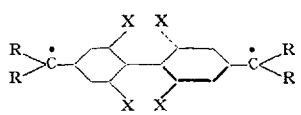
Die *meta-Verknüpfung* führt zu einem von W. SCHLENK zuerst dargestellten Kohlenwasserstoff. Diese Verbindung ist in festem Zustand fast farblos, zeigt orangegelbe benzolische Lösungen, deren Farbe sich beim Erwärmen vertieft, beim Abkühlen zurückgeht, sie gibt das SCHMIDLIN-Phänomen und ist paramagnetisch (*43*). Kurz, ein Verhalten, wie es in ganz ähnlicher Weise die „hälftige" Verbindung, das Trityl selbst, zeigt. Somit scheint hier tatsächlich ein Biradikal vorzuliegen.

Noch anders liegt der dritte Fall c. Die *para-Verknüpfung* führt hier zu einem zuerst von TSCHITSCHIBABIN dargestellten Kohlenwasserstoff, der in ganz besonders ausgeprägtem Maße Radikaleigenschaften zeigt. Der Stoff ist in benzolischer Lösung tief-dunkelviolett, reagiert äußerst lebhaft mit Luftsauerstoff, Halogenen usw. Aber seine magnetische Messung zeigt im Gegensatz zur Erwartung keine Spur von Paramagnetismus (*43*). Die Deutung dieses widersprechenden Verhaltens, über die später (S. 371, 381, 408) näher berichtet wird, ist erst nach jahrelangen Bemühungen gelungen.

Vergleicht man diese drei Möglichkeiten zur Synthese von Biradikalen, erscheint es sinnvoll, in Richtung des meta-Stoffes von SCHLENK weiter zu suchen. Vom Standpunkt des organischen Chemikers ergibt sich, daß offenbar die Verhinderung der Chinoidierung (Nichtexistenz eines meta-Chinons) von besonderer Bedeutung für die Darstellung von Biradikalen ist.

1. Biradikale von holatropen Diphenylen.

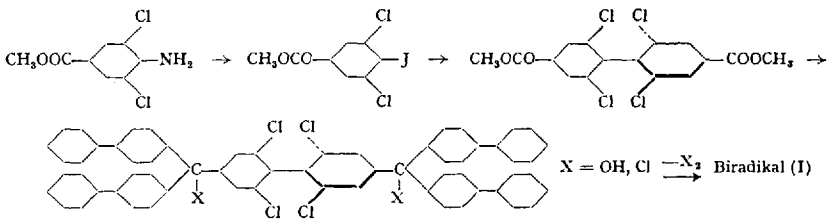
a) Darstellung. Die Verhinderung der Ausbildung eines chinoiden Systems kann beispielsweise dadurch erfolgen, daß man die beiden Phenylkerne des Diphenylsystems gegeneinander um einen möglichst großen Winkel (maximal 90°) verdreht. Dies gelingt durch Einführung großer raumerfüllender Atome oder Atomgruppen in die ortho-Stellungen des Systems, orthoständig zur Kernverknüpfung:



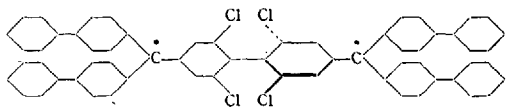
X = Cl, Br, NO_2
R = C_6H_5, $C_6H_4C_6H_5$.

Unter weiterer Berücksichtigung der Erfahrungen von W. SCHLENK wird man dann einen von der Art der Substituenten R abhängigen Radikalanteil erwarten können. Das Ziel der Auffindung eines in Lösung möglichst völlig freien Biradikals dürfte daher am ehesten durch Einführung von R = Xenyl = Biphenylylgruppen zu erhoffen sein. Einer

der recht mühevollen Wege, auf denen man zu solchen Verbindungen gelangen kann, sei im folgenden kurz formelmäßig wiedergegeben (*55*):

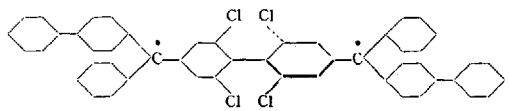


Es gelang so die Darstellung folgender atroper Verbindungen:



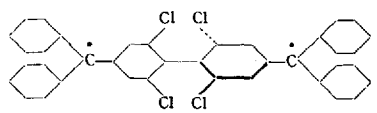
(*55*)

I



(*55*)

II



(*55*)

III

Alle diese Stoffe sind in festem Zustand fast farblos. Lediglich die höchstsubstituierte Verbindung (I) erhält man gelegentlich aus ihren übersättigten Petrolätherlösungen in Form von dunkelbraunen Krystallen mit metallisch schimmerndem Oberflächenglanz. Die Stoffe liefern dunkelgelbe bis braune benzolische Lösungen, deren Farbe sich zum Teil mit zunehmender Temperatur sehr vertieft. Alle Lösungen enthalten einen *paramagnetischen* Stoff. Bezüglich der Sauerstoffreaktion liegen die Verhältnisse ganz ähnlich denen, die von entsprechenden Monoradikalen bekannt sind. Sauerstoff wird von allen genannten Verbindungen lebhaft unter Bildung von Peroxyden absorbiert, die aber aus angesäuerter Jodkalilösung kein Jod in Freiheit setzen, ganz analog den Tritylperoxyden. Weitere Einzelheiten der Konstitution sind noch unbekannt. Das SCHMIDLIN-Phänomen wird im übrigen von diesen Biradikalen ganz entsprechend den „hälftigen" Verbindungen je nach der Art der Substituenten gegeben.

b) Magnetisches Verhalten. Die in Benzol tiefdunkel-rotbraune Lösung von I liefert bei 293° K und 353° K eine stark paramagnetische Suszeptibilität. Ihre Werte unterscheiden sich bei den verschiedenen Meßtemperaturen nur unwesentlich, was auf weitgehendes Fehlen der

Assoziationserscheinungen und Vorliegen eines größtenteils monomeren Biradikals schließen läßt. Aus der direkt experimentell ermittelten Größe der spezifischen paramagnetischen Suszeptibilität und ihrer Temperaturabhängigkeit kann man schließen, daß in diesem Fall der für ein freies, monomeres Biradikal zu erwartende Magnetonenwert weitgehend erreicht wird und das Curie-Gesetz ebenfalls erfüllt ist.

$$293°\,\mathrm{K}: \chi_{\mathrm{spez}\cdot\mathrm{p}\cdot\mathrm{gef}} = +\,2{,}1\cdot 10^{-6}$$
$$353°\,\mathrm{K}: \chi_{\mathrm{spez}\cdot\mathrm{p}\cdot\mathrm{gef}} = +\,2{,}7\cdot 10^{-6} \quad \mu_{eff} = 2{,}2\,\mu_B .$$

Einen genauen Prozentgehalt dieser benzolischen Radikallösungen anzugeben, ist wegen eventuell noch vorhandener Polymerisationen nicht ohne weiteres möglich.

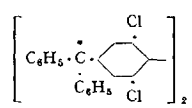
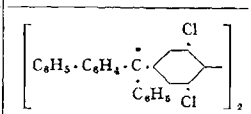
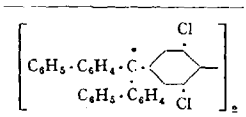
c) Polymerisation. Während bei Monoradikalen je nach der Konstitution nur ein Gleichgewicht der nachstehenden Art 2 Monomer $\rightleftharpoons$ Dimer (Homolyse einer C—C-Einfachbindung!) vorliegen kann, sind die Verhältnisse bei Biradikalen wesentlich verwickelter. Nur in dem oben erwähnten Grenzfall, in dem das Gleichgewicht praktisch ganz auf der Seite des Monomeren liegt, sind die Verhältnisse einfach zu überblicken. Andernfalls sind verschiedene Arten der Aneinanderlagerung der Monomeren vorhanden (*58*), bei Biradikalen z. B.

Ringpolymerisate: 2—A— → $\binom{A}{A}$; 3—A— → usf.

Kettenpolymerisate: 2—A— → —A—A—; 3—A— → —A—A—A— usf.

Ring- und Kettenpolymerisation lassen sich dadurch unterscheiden, daß die erste Art der Aneinanderlagerung diamagnetische, die zweite

Tabelle 2. *Vergleich einfacher und konstitutionell ähnlicher „verdoppelter Monoradikale".*

Monoradikal				Biradikal			
Substanz	T	$100\,\alpha$	$-D$ (kcal)	$-D$ (kcal)	$100\,\alpha$	T	Substanz
$C_6H_5\cdot\dot{C}\cdot C_6H_5$ $\dot{C}_6H_5$	279 353	2 27	11,6 ± 1,7	~ 12 ± 2	17[1] 28	291 353	
$C_6H_5\cdot C_6H_4\cdot\dot{C}\cdot C_6H_5$ $\dot{C}_6H_5$	279	15	(9)[2]	~ 8 ± 2	14 46	291 353	
$C_6H_5\cdot C_6H_4\cdot\dot{C}\cdot C_6H_5$ $\dot{C}_6H_4\cdot C_6H_5$	279	80	(7)[2]	~ 3 ± 2	73 80	293 353	

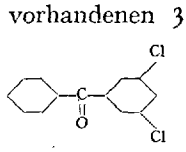
[1] Wert unsicher. [2] Abgeschätzter Wert.

paramagnetische Molekeln liefert. Durch Kombination der Messung der spezifischen paramagnetischen Suszeptibilität und Bestimmung des durchschnittlichen Molekulargewichtes läßt sich eine Entscheidung zwischen den verschiedenen Möglichkeiten der Aneinanderlagerung treffen. Diese Entscheidung steht noch aus.

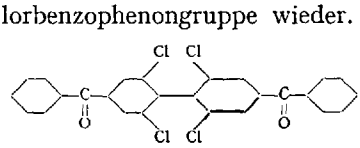
Vernachlässigt man die durch mögliche Polymerisationen denkbaren Schwierigkeiten und legt *versuchsweise* der Berechnung des Gehalts an Biradikal nur Dimerisationen nach Art des Hexaphenyläthangleichgewichts zugrunde, so ergeben sich die in der vorstehenden Tabelle 2 zusammengefaßten Werte. Ihr Vergleich mit den entsprechenden Werten „hälftiger" Verbindungen (auf diesen Vergleich kommt es hier nur an und nicht auf die Absolutwerte!) zeigt einen von den Substituenten und der Temperatur abhängigen *gleichartigen* Gang der Werte für Mono- und Biradikale.

Man sieht, daß diese Annahme im allgemeinen zu recht vernünftigen Ergebnissen in Übereinstimmung mit den Erfahrungen auf dem Gebiet der Monoradikale führt. Bezüglich der Polymerisationsverhältnisse entsprechen die atropen Verbindungen daher ebenfalls den Monoradikalen und verhalten sich wie verdoppelte Monoradikale.

d) Optisches Verhalten. Besondere Beachtung bei der Lösung des Biradikalproblems verdienen die optischen Untersuchungen. In Übereinstimmung mit den Befunden von L. W. PICKETT, G. F. WALTER und H. FRANCE (*65*), ferner RODEBUSH und FELDMANN (*68*), WILLIAMSON und RODEBUSH (*101*) konnten Verfasser und seine Mitarbeiter (*53*), (*55*), (*56*), (*57*), (*59*) feststellen, daß sich die *UV-Absorptionsspektren* atroper Verbindungen in charakteristischer Weise von den UV-Spektren der entsprechenden „hälftigen" Verbindungen unterscheiden. So zeigt z. B. das 3,5-Dichlorbenzophenon (IV) bei fast der gleichen Wellenlänge $\lambda = 3420$ Å wie das 2,2',6,6'-Tetrachlor-4,4'-dibenzoyldiphenyl (V) ein Absorptionsmaximum. Das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten beim λ_{max} beträgt 1:2,5, d. h. praktisch findet man bei den atropen Diphenylen nur die doppelte Absorption der hier zweimal in der Molekel vorhandenen 3,5-Dichlorbenzophenongruppe wieder.



IV



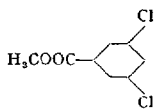
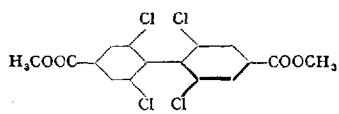
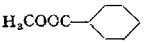
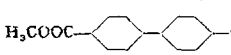
V

Ist aber durch Wegfall der raumerfüllenden orthoständigen Cl-Atome keine Behinderung der freien Drehbarkeit um die die Kerne des Diphenylsystems verbindende Achse vorhanden, wie z. B. bei dem Stoffpaar Benzophenon, *p,p'*-Dibenzoyldiphenyl, dann tritt neben einer Verschiebung der Absorptionskurve des „Dimeren" zu längeren Wellen

ein Verhältnis der Extinktionskoeffizienten beim λ_{max} von etwa 1:10, oder bei dem Stoffpaar Benzol-Diphenyl sogar 1:100 auf.

Ganz entsprechende Verhältnisse findet man auch bei anderen Stoffpaaren dieser Art, wie sie in der nachstehenden Tabelle 3 wiedergegeben sind:

Tabelle 3. *Extinktionen der UV-Spektren atroper und nichtatroper Stoffpaare beim* λ_{max}.

Substanz	λ_{max}	lg ε	$\varepsilon_1/\varepsilon_2$
	2920	3,15	1:3
	2950	3,64	
	2650, 2790	2,9; 2,92	1:40
	2820	4,52	

Zur Verdeutlichung der Verhältnisse sind die Kurvenbilder wiedergegeben (Abb. 5 und 6).

Die bisherigen Erfahrungen (*13*), (*28*) über die UV-Absorptionsspektren atroper Diphenylverbindungen und ihrer „Molekelhälften" kann man in folgender *UV-Regel* zusammenfassen: besitzt ein Diphenylderivat beim Absorptionsmaximum einen Extinktionskoeffizienten, der etwa nur doppelt so groß ist wie der Extinktionskoeffizient beim λ_{max} der entsprechenden „hälftigen" Verbindung, so ist das Vorliegen einer Behinderung der freien Drehbarkeit äußerst wahrscheinlich. In atropen Diphenylderivaten beeinflussen sich die Molekelhälften praktisch nicht. Sie sind in optischer Beziehung im wesentlichen unabhängig voneinander. Da aber die optische Wirksamkeit in erster Linie durch die π-Elektronen hervorgerufen wird, bedeutet dies, daß in derartigen atropen Diphenylverbindungen eine weitgehende Unabhängigkeit der π-Elektronensysteme beider Molekelhälften vorhanden ist. In Übereinstimmung mit diesen Befunden stehen auch die theoretischen Überlegungen von TH. FÖRSTER (*16*), (*17*), (*18*), (*19*), (*20*), wonach in diesen Molekeln die sterische Beeinflussung der ortho-ständigen Atome oder Atomgruppen auf die Abweichung der Diphenylkerne von der ebenen Lagerung groß genug ist, um die praktisch völlige Unabhängigkeit der beiden Phenylreste herzustellen.

Im Hinblick auf die Konstitution der atropen Biradikale ist ferner der Befund von Bedeutung, daß nicht nur Vor- und Zwischenstufen der Synthese dieser Stoffe der UV-Regel folgen, sondern auch die vorletzte Stufe zur Radikalbildung, die ditertiären Carbinole, ebenfalls das Vorliegen dieser Verhältnisse zeigen. Da bei der Biradikalbildung aus den Carbinolen keine Reaktion am sterisch wichtigen Zentrum ausgeführt wird, ist der Schluß von der Konstitution dieser Carbinole auf die der entsprechenden Biradikale mit großer Wahrscheinlichkeit möglich. Diese radikalischen Stoffe können daher nicht eben aufgebaut

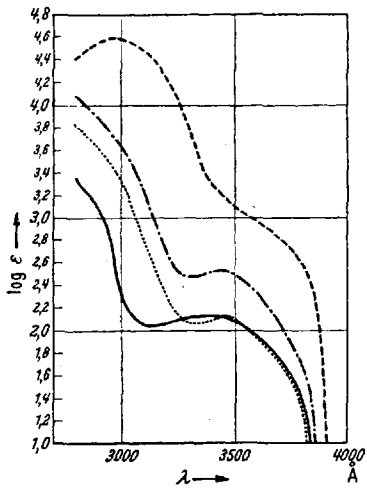


Abb. 5. UV-Absorptionsspektren (in Dioxan). ——— Benzophenon, - - - - - - p,p'-Dibenzoyldiphenyl, ... 3,5-Dichlorbenzophenon, —·—·— p,p'-Dibenzoyl-2,6; 2',6'-tetrachlordiphenyl.

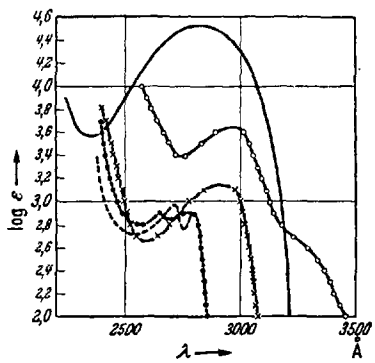


Abb. 6. UV-Absorptionsspektren (in Dioxan). —o—o— p,p'-Bis-(carboxymethyl)-2,6; 2',6'-tetrachlordiphenyl; —x—x— 3,5-Dichlor-benzoesäuremethylester; ——— p,p'-Diphenyl-dicarbonsäure-dimethylester; —●—●— Benzoesäure-methylester; - - - - - Benzoesäure-methylester [in Hexan nach K. L. Wolf u. O. Strasser: Z. physik. Chem. B 21, 402 (1933)].

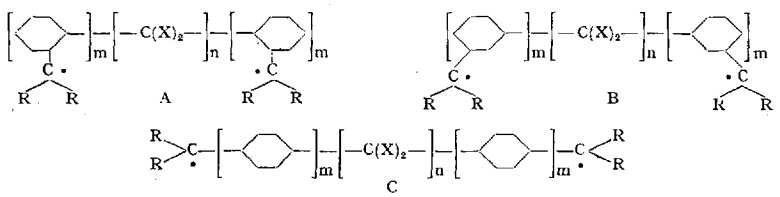
sein. Sie sind *atrope Biradikale,* in denen die π-Elektronen-Teilsysteme der Molekelhälften sich praktisch nicht mehr beeinflussen (370).

Fassen wir zusammen: die *holatropen p,p'-Bis-diarylmethyl-diphenyl*-derivate verhalten sich in chemischer und physikalischer Beziehung wie wahre *„verdoppelte" Monoradikale.* Im Sinne des ursprünglichen Radikalbegriffs (*5*) liegen somit in ihnen die *ersten einwandfrei bekanntgewordenen Biradikale* vor.

2. Biradikale von Γ-Paraffinen.

Eine andere Möglichkeit zum Aufbau von Biradikalen ergibt sich dadurch, daß man die beiden „Radikalzentren" durch das sterisch stabile System von ein oder mehreren einfach gebundenen *valenzmäßig gesättigten C-Atomen* voneinander trennt. Die Verbindung der beiden radikalischen Molekelhälften wird also durch ein Gerüst von

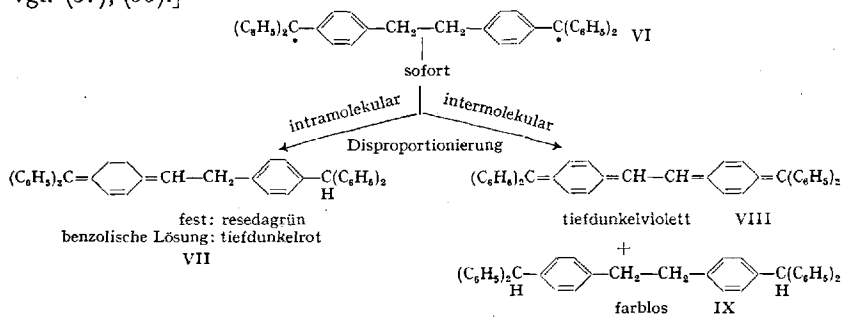
σ-Elektronen hergestellt, wobei durch völlige Substitution dieser C-Atome allen möglichen Ausweichreaktionen, z. B. durch Disproportionierung vorgebeugt werden muß. Wegen des Vorhandenseins der ortho-, meta- und para-Stellungen in den radikalischen Teilen (Tritylen) ergeben sich auch hier grundsätzlich drei verschiedene Möglichkeiten der symmetrischen Verknüpfung der Molekelhälften über die völlig substituierte Γ-Paraffinbrücke.



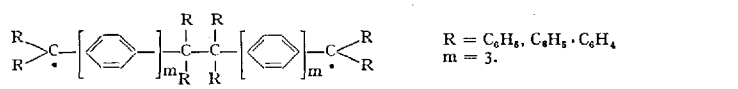
A B C

$X = C_6H_5,\ C_6H_4C_6H_5, \quad R = X, \quad R \neq X, \quad m = 1, 2, 3, \ldots \quad n = 1, 2, 3 \ldots$

Versuche, Substanzen dieser Art herzustellen, wurden früher von G. WITTIG (*103*) unternommen. Mit $n = 1, 2, 3$ und $m = 1$, $R = C_6H_5$, $X = H$, erhält man aber Verbindungen, die ein chinoides Bindungssystem enthalten. Wegen $X = H$ genügen diese Stoffe nicht den obigen Bedingungen und weichen durch Disproportionierung aus. Auch hier ermöglichte erst die Anwendung der magnetischen Methode eine Klärung der vorliegenden Verhältnisse (*50*). [Zur Disproportionierung vgl. (*37*), (*90*).]



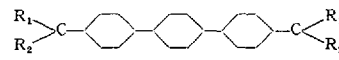
Ersetzt man aber in den Verbindungen des Typus C die Gruppe X durch einen aromatischen Rest, so entstehen in der Tat Biradikale.



$R = C_6H_5,\ C_6H_5 \cdot C_6H_4$
$m = 3.$

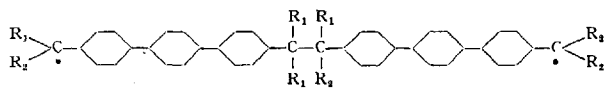
a) Darstellung der p,p'-bisarylierten Äthane. Von den zahlreichen denkbaren Verbindungen der oben genannten Typen A—C sind infolge der schwierigen Zugänglichkeit bisher nur Stoffe des Typus C gewonnen worden.

Diese Γ-substituierten Äthane entstanden bei dem Versuch, die entsprechenden hälftigen Verbindungen, z. B. die folgenden *Terphenyl*-derivate herzustellen.



$R_1 = C_6H_5 = R_2$.
$R_1 = C_6H_5$, $R_2 = C_6H_4C_6H_4$.
$R_1 = C_6H_5C_6H_4 = R_2$.

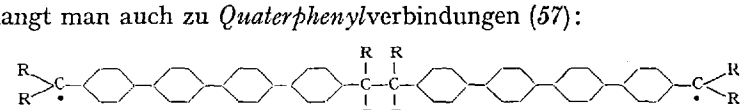
Zur präparativen Gewinnung der Substanz geht man von den entsprechenden Diketonen aus, die in geeigneter Weise mit lithiumorganischen Verbindungen zu den ditertiären Carbinolen umgesetzt werden. Aus ihnen gelangt man dann zu den gesuchten Kohlenwasserstoffen (*56*). Auf die Gründe, warum hier nicht das monomere Chinomethid-Derivat, sondern eine mindestens dimere Verbindung entsteht, kommen wir später (S. 360) näher zu sprechen.



$R_1 = R_2 = C_6H_5$ (X)
$R_1 = C_6H_5$, $R_2 = C_6H_4C_6H_5$ (XI)
$R_1 = R_2 = C_6H_4C_6H_5$ (XII)

Alle drei Kohlenwasserstoffe, X, XI, XII, sind lebhaft farbig (in festem Zustand gras- bis gelbgrün). Die benzolischen Lösungen weisen einen starken Dichroismus rot-grün auf, wobei das völlig xenylierte Produkt XII in der Durchsicht intensiv dunkelrot benzolische Lösungen gibt, während es wegen des starken Dichroismus bei der Lösung der phenylierten Verbindung X visuell nicht möglich ist, eine Lösungsfarbe genau anzugeben.

Auf dem gleichen Wege, der zu den Terphenylverbindungen führt, gelangt man auch zu *Quaterphenyl*verbindungen (*57*):



$R = C_6H_5$ (XIII)

Die Substanz hat in festem Zustand eine olivgrüne Farbe, ihre benzolische Lösung sieht bräunlich rot aus. Der bei den Terphenylen sehr stark vorhandene Dichroismus rot-grün ist in allerdings wesentlich abgeschwächtem Maße auch bei der Quaterphenylverbindung vorhanden. Beim Erwärmen der Lösungen von X und XIII, insbesondere von X, vertieft sich die Farbe beträchtlich und geht beim Abkühlen wieder zurück. Gegen Luftsauerstoff sind alle 4 Verbindungen sehr empfindlich. Das SCHMIDLIN-Phänomen läßt sich bei X und XIII gut, bei XI gerade noch und bei XII nicht mehr beobachten. Die ausfallenden Peroxyde aller Kohlenwasserstoffe setzen zum Unterschied von den Peroxyden der holatropen Diphenyle aus einer angesäuerten KJ-Lösung Jod in Freiheit (echte Peroxyde!).

b) Magnetisches Verhalten. Sämtliche untersuchten Verbindungen sind in Lösung und in festem Zustand *paramagnetisch.*

Die *Berechnung* der *Biradikalprozente* aus der gefundenen spezifischen paramagnetischen Suszeptibilität bezieht sich auf das offenkettige Dimere, so daß die in der Tabelle 4 angegebenen Werte Höchstwerte

Tabelle 4. *Paramagnetische Suszeptibilität der Kohlenwasserstoffe X, XI, XII und XIII in Prozent des maximalen Wertes für offenkettige Dimere.*

Nr.	n	Substanz		2%ige benzolische Lösung		3,9%ige benzolische Lösung		μ_{eff}	
		R	R'	20°	80°	20°	80°	20°	80°
1	3	Ph	Ph	26 ± 4	82 ± 2	16 ± 3	54 ± 5		
2	3	Ph	Xe	46 ± 4	110 ± 10	24 ± 4	80 ± 8		$\sqrt{6}$
3	3	Xe	Xe	106 ± 10[1]	108 ± 10[1]			$\sqrt{6}$	$\sqrt{6}$
4	4	Ph	Ph	44 ± 4	98 ± 10	22 ± 4	66 ± 6		

[1] In 1,8%iger benzolischer Lösung.

darstellen. Die Verbindungen 1 und 2 zeigen in verdünnter Lösung eine beträchtliche Steigerung des Paramagnetismus in Abhängigkeit von der Temperatur, und 2 liefert bei 80° C einen Magnetonenwert von $\sim\sqrt{6}\,\mu_B$. Dagegen läßt die völlig xenylierte Verbindung 3 keine solche Temperaturabhängigkeit des Paramagnetismus mehr erkennen. Vielmehr ist auch schon bei Zimmertemperatur der *maximale Magnetonenwert* von $\sqrt{6}\,\mu_B$ erreicht. Polymerisationserscheinungen spielen daher bei dieser Verbindung praktisch keine Rolle mehr. Bei den anderen Stoffen läßt sich aus den schon erwähnten Gründen keine genaue Angabe des Biradikalanteils geben. Die in der folgenden Tabelle eingetragenen Prozentwerte sind daher wieder als Höchstwerte offener dimerer Formen zu betrachten.

Tabelle 5. *Paramagnetische Suszeptibilität der festen Kohlenwasserstoffe X, XII und XIII in Prozent des maximalen Wertes für offenkettige Dimere.*

Nr.	n	Substanz		T						
		R	R'	90°	195°	293°	353°	393°	413°	433°
1	3	Ph	Ph	17	17	17	21	28	27	16[1]
2	3	Xe	Xe	40	43	44				
3	4	Ph	Ph			31	38			

[1] Substanz beginnt sich zu zersetzen.

Berechnet man versuchsweise bei Nr. 2 den Magnetonenwert, so erhält man unter Zugrundelegung der dimeren Formulierung einen praktisch temperaturunabhängigen Wert von $\sqrt{3}\,\mu_B$. Möglicherweise liegt im festen Zustand hier ein Tetrameres vor. Wenngleich die Verhältnisse

bei festen Stoffen schwierig zu deuten sind, so gibt dies immerhin einen Fingerzeig, daß diese Verbindungen wohl nicht zu hohen Polymeren sich zusammenlagern, sondern *relativ kurzkettige Gebilde* darstellen. Die Δ-Werte, die sich aus den entsprechenden $1/\chi_P$-T-Diagrammen ergeben (Abb. 7 und 8), lassen auf Gültigkeit des Curie-Gesetzes und damit Vorliegen eines Σ-Zustandes schließen.

c) Polymerisation. Für die Polymerisationserscheinungen gilt hier dasselbe, was schon an früherer Stelle (S. 342) gesagt worden ist. Das SCHMIDLIN-Phänomen, sowie Größe und Temperaturabhängigkeit des Paramagnetismus sprechen für das Vorliegen derartiger Polymerisationen. In den benzolischen Lösungen wird das

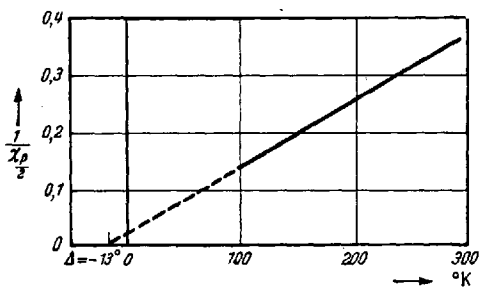


Abb. 7. $1/\chi_P$-T-Diagramm von XII (in festem Zustand).

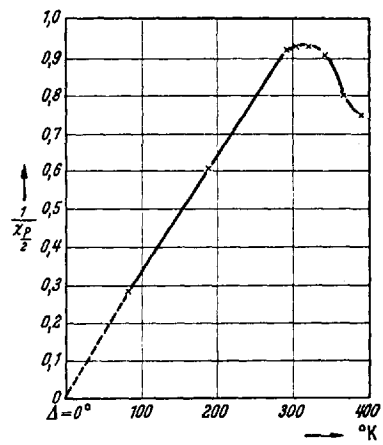


Abb. 8. $1/\chi_P$-T-Diagramm von X (in festem Zustand).

Polymerisationsbestreben der monoradikalischen „Hälfte" des „dimeren" Bausteins maßgebend sein. So kann man den annähernd gleichen Paramagnetismus von XI und XIII als Folge einer gleichartigen „Belastung" der Radikal-C-Atome durch je 6 Benzolringe (Phenyl-xenyl-terphenylylmethyl und Diphenyl-quaterphenylylmethyl) verstehen.

Bei XII, das in seiner monoradikalischen Hälfte einem Dixenylterphenylylmethyl entspricht, ist in Übereinstimmung mit allen Erfahrungen der Radikalchemie die „Belastung" der Radikal-C-Atome bereits so groß, daß mit einer Polymerisation praktisch nicht mehr zu rechnen ist. Damit stimmt der für das offenkettige Dimere gefundene Paramagnetismus von $\sqrt{6}\,\mu_B$ und seine Temperaturunabhängigkeit sehr gut überein. Auch die gute Erfüllung des Curie-Gesetzes bei den festen Stoffen läßt sich mit der Annahme eines bestimmten Polymerisationsgrades vereinbaren.

d) Optisches Verhalten. Auch durch UV-Aufnahmen der Vor- und Zwischenprodukte der Herstellung dieser Γ-Äthane läßt sich ein weiterer Beitrag zur Frage der Konstitution dieser Verbindungen gewinnen. Die

Spektren der *ditertiären Carbinole* sind in den folgenden Abb. 9 und 10 wiedergegeben (*56*), (*57*).

Zu Vergleichszwecken sind die Spektren von Triphenylcarbinol, die des Dicarbinols des TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoffs sowie diejenigen des Di- und Terphenyls aufgeführt. Für das Stoffpaar XIV, XV gelten die folgenden Beziehungen: $(C_6H_5)_2C(C_6H_5)$ und $[(C_6H_5)_2C-C_6H_4-]_2$

OH OH

XIV XV.

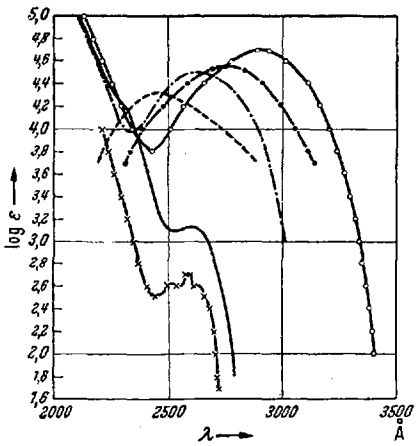


Abb. 9. UV-Absorptionsspektren (in Dioxan). —x—x— Triphenylcarbinol, ——— p,p'-Bis-(diphenyl-oxy-methyl)-benzol, — · — · — p,p'-Bis-(diphenyl-oxy-methyl)-diphenyl, —o—o— p,p'-Bis-(diphenyl-oxy-methyl)-terphenyl, - - - - - - Diphenyl, — • — • — Terphenyl (in Hexan nach E. GILLMAN u. D. H. HEY: J. chem. Soc. London **1939**, 1170).

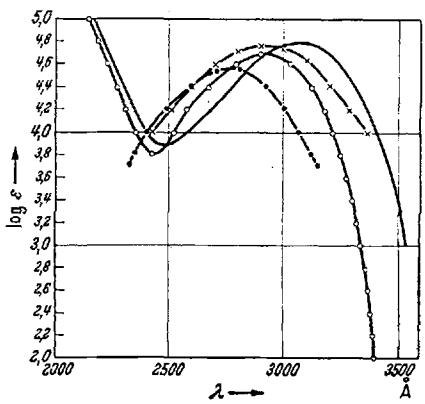


Abb. 10. UV-Absorptionsspektren (in Dioxan). —o—o— p,p'-Bis-(diphenyl-oxy-methyl)-terphenyl ——— p,p'-Bis-(diphenyl-oxy-methyl)-quaterphenyl, — • — • — Terphenyl, —x—x— Quaterphenyl (in Hexan, nach GILLMAN u. HEY).

Das Triphenylcarbinol besitzt drei kleinere nebeneinander liegende Maxima bei λ: 2530, 2590, 2640 Å und hat für $\lambda_{max} = 2530$ Å einen Extinktionskoeffizienten von $\lg \varepsilon = 2{,}74$. Demgegenüber hat das „doppelte" Carbinol nur ein breites Band mit einem λ_{max} bei 2630 Å und einer Extinktion von $\lg \varepsilon = 4{,}5$. Das Verhältnis der beiden Extinktionskoeffizienten beim λ_{max} ist daher 1 : 57,5. Nach der UV-Regel läßt sich daraus folgern, daß die beiden π-Elektronenteilsysteme der „dimeren" Molekel sich gegenseitig stark beeinflussen, also im Zeitmittel die Molekel praktisch eben gebaut sein muß.

Beim Übergang vom Diphenyl-dicarbinol-derivat zur entsprechenden Terphenylverbindung findet eine Verschiebung des λ_{max} nach längeren Wellen um ~290 Å statt, die Extinktion steigt auf $\lg \varepsilon = 4{,}7$. Das Intensitätsverhältnis beträgt hier 1 : 1,5, analog den spektralen Verhältnissen beim Übergang vom Diphenyl zum Terphenyl. (Rotverschiebung des λ_{max} um etwa 300 Å, Intensitätsverhältnis bei λ_{max} 1 : 1,7.) Schließlich findet man das gleiche Bild beim Übergang vom ditertiären Carbinol der Terphenyl- zur Quaterphenylreihe und beim Terphenyl-Quaterphenyl selbst wieder ($\Delta\lambda_{max} \sim 170$ Å, Extinktionsverhältnis 1 : 1,2 und $\Delta\lambda_{max} \sim 160$ Å und 1 : 1,6). Man wird daher auch für das Quaterphenylderivat eine beträchtliche

Wechselwirkung der π-Elektronen und damit eine im Zeitmittel durchschnittliche ebene Lage der Molekeln annehmen können (zumindest in der untersuchten Dioxanlösung). Von einer konstanten Senkrechtstellung der Molekelteile bzw. -hälften gegeneinander fehlt jede Andeutung (*22*). Es spricht nichts gegen die Auffassung, daß in solchen Molekeln vom Terphenyl- und Quaterphenyltypus im wesentlichen nur Verdrillungsschwingungen um die ebene Lage stattfinden. Allerdings sind weitere Untersuchungen notwendig, ehe man zu bindenden Schlüssen über diese Feinheiten der Molekelstruktur gelangen kann.

Insgesamt bestätigen diese Ergebnisse an den Spektren der Ter- und Quaterphenylcarbinole indirekt die oben erläuterte UV-Regel.

Zusammenfassend kann man feststellen, daß die Γ-substituierten Paraffine sich ebenso wie die atropen Diphenyle in chemischer und physikalischer Beziehung wie *„verdoppelte" Monoradikale* verhalten, demnach als Biradikale im eigentlichen Sinne vorliegen.

V. Kohlenstoffbiradikaloide.

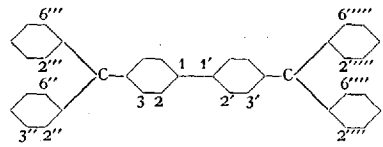
Bei der Betrachtung der „Homolyse" einer C=C-Doppelbindung hatten wir gesehen, daß neben einer „Vereinzelung" der beiden π-Elektronen einer Doppelbindung noch zusätzlich sterische Faktoren erforderlich sind, um eine möglichst weitgehende Unabhängigkeit dieser vereinsamten Elektronen und damit der ganzen π-Elektronenteilsysteme zu erreichen. Diese Bedingungen wurden von den holatropen Biradikalen durch die erzwungene Querstellung der Molekelhälften zueinander und von den Γ-substituierten Äthanderivaten durch die Verbindung der Molekelhälften über ein valenzmäßig gesättigtes System erfüllt.

Man kennt nun eine große Zahl von Verbindungen, bei denen zwar eine „Vereinzelung" der π-Elektronen irgendwie erreicht ist, oder durch Zufuhr von mitunter schon geringer Energie erreichbar wird, die aber die zweite und ebenso wichtige Bedingung der weitestgehenden Unabhängigkeit durch zusätzliche sterische Faktoren nicht besitzen. Verbindungen dieser Art zeichnen sich häufig durch ein überraschend großes Reaktionsvermögen und tiefe Farbigkeit aus, verhalten sich also den Radikalen sehr ähnlich, so daß man sie zur Kennzeichnung dieses Zustandes mit einem besonderen Namen, *Biradikaloide*, belegt hat. In dieser Stoffgruppe findet man alle denkbaren Abstufungen im chemischen und physikalischen Verhalten, so daß es manchmal recht schwierig ist, eine Zuordnung zu treffen. Bevor wir auf diese Fragen näher eingehen, die mit der Definierung und Präzisierung des Biradikalbegriffes eng zusammenhängen, sei im folgenden das Verhalten einiger neuer, typischer Vertreter dieser Stoffklasse besprochen.

1. Biradikaloide von meratropen Diphenylen.

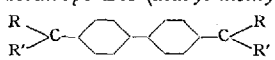
Von der Stoffklasse der atropen Biradikale war bisher nur der Typus besprochen, der durch eine *maximale Verdrehung* der beiden

Benzolringe des Diphenylsystems gegeneinander zustande kommt. Durch Einführung kleinerer raumerfüllender Gruppen in die 4 ortho-Stellungen oder durch Besetzung von nur drei, zwei oder einer ortho-Stellung sind die verschiedensten Möglichkeiten der Verdrillung der Kerne zueinander gegeben. Außerdem können durch Besetzung der 3,3′- und/oder 5,5′-Stellungen des Diphenylsystems oder Einführung von großen Atomen bzw. Atomgruppen in die ortho-Stellungen der äußeren Phenylkerne 2″, 6″ usw. neue Variationen geschaffen werden.



Von den zahlreichen stellungsisomeren Stoffen sind erst wenige experimentell geprüft worden, die in Tabelle 6 aufgeführt sind.

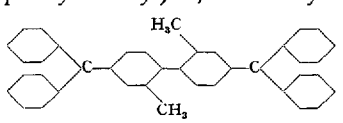
Tabelle 6. *Meratrope Bis-(diaryl-methyl)-diphenyle.*



Substituenten		Stellung der CH_3-Gruppe	Farbe der benzolischen Lösung	Verhalten gegen O_2	Magnetismus
R	R′				
Ph Ph	Ph Ph	2 2′	gelb bis tiefrot	+ !	paramagnetisch
Ph Ph	Ph Ph	3 3′	tiefdunkelblau	+	paramagnetisch
To Ph	To Ph	2″ 2⁗	rotviolett	++	diamagnetisch
To Ph	To Ph	3″ 3⁗	blauviolett	++	diamagnetisch

! SCHMIDLIN-Phänomen, + rasche, ++ sehr rasche O_2-Aufnahme.

a) p,p′-Bis-(diphenyl-methyl)-2,2′-dimethyl-diphenyl.



I

Dieser von W. THEILACKER (*93*), (*94*) dargestellte Kohlenwasserstoff liefert bei Zimmertemperatur schwach gelbe benzolische Lösungen, deren Farbe sich beim Erwärmen reversibel zu einem sehr intensiven Dunkelrot vertieft. Die Lösungen zeigen das SCHMIDLIN-Phänomen und sind *paramagnetisch*. Charakteristisch sind ferner die *UV-Spektren* der diesem Kohlenwasserstoff entsprechenden Diketone und Dicarbinole (*59*) (Abb. 11 und 12).

Dieses nur in *zwei* ortho-Stellungen durch Methyl substituierte Diphenylderivat, das 4,4'-Dibenzoyl-2,2'-dimethyl-diphenyl (Abb. 11, 1), zeigt eine UV-Absorption, die nach Lage und Charakter eine *Mittel*stellung zwischen den in ihrer freien Drehbarkeit völlig behinderten und den unbehinderten Verbindungen einnimmt. Es ist ein wenig ausgeprägtes, auf der langwelligeren Seite liegendes Absorptionsband vorhanden, dessen Maximum etwa bei $\lambda \sim 3350$ bis 3450 Å zu suchen ist mit einer Extinktion beim λ_{max} : $\lg \varepsilon = 2{,}7$. Bildet man das Verhältnis der Extinktionen beim λ_{max} bei dem Stoffpaar Nr. 1 der Abb. 11 – Benzophenon (eigentlich müßte man 3-Methylbenzophenon nehmen), dann erhält man den Quotienten 1:3,2.

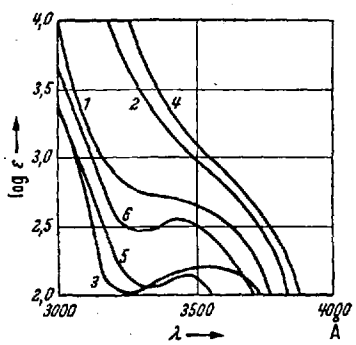


Abb. 11. UV-Absorptionsspektren (in Dioxan). 1. p-Dibenzoyl-o-ditolyl, 2. p-Dibenzoyl-m-ditolyl, 3. Benzophenon, 4. p-Dibenzoyl-diphenyl, 5. 3,5-Dichlorbenzophenon, 6. p,p'-Dibenzoyl-2,6; 2',6'-Tetrachlordiphenyl.

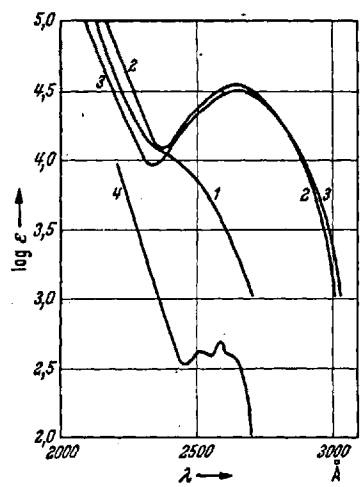
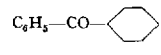
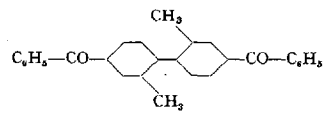
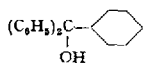
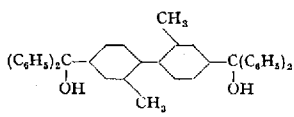
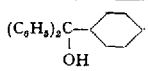
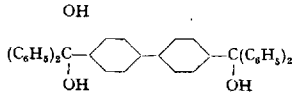


Abb. 12. UV-Absorptionsspektren von tertiären aromatischen Carbinolen und ditertiären Carbinolen (in Dioxan). 1. p,p'-Bis-(diphenyloxymethyl)-2,2'-dimethyldiphenyl; 2. p,p'-Bis-(diphenyloxymethyl)-3,3'-dimethyldiphenyl; 3. p,p'-Bis-(diphenyloxymethyl)-diphenyl; 4. Triphenylcarbinol.

Auch die *UV-Spektren* der den Kohlenwasserstoffen zugrunde liegenden *ditertiären Carbinole*, die in den Abbildungen wiedergegeben sind, lassen dieselben Verhältnisse erkennen.

Von Bedeutung ist in diesem Zusammenhang der Vergleich der Spektren der obengenannten Substanzen mit den von M. T. O'SHAUGHNESSY und W. H. RODEBUSH (*91*) untersuchten *UV-Absorptionen* von *2,2'-dimethylsubstituierten Diphenylen*. Im Gegensatz zu den in ortho-Stellung zur Diphenylverknüpfung 4fach substituierten Verbindungen zeigen diese Diphenylderivate bei λ 2600 Å nur die Andeutung eines Maximums, sind aber in der Höhe der Extinktion gegenüber der unsubstituierten Verbindung wieder stark erniedrigt. Der Kurvenhabitus des 2,2'-Dimethyldiphenyls entspricht somit ganz den an obigen Stoffen gemachten Beobachtungen.

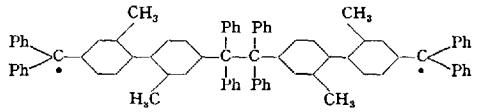
Tabelle 7. *Extinktionen der UV-Spektren von meratropen und nichtatropen Stoffpaaren beim* λ_{max}.

Substanz	λ_{max} Å	lg ε	$\varepsilon_1/\varepsilon_2$
	3500	2,2	1 : 3,2
	~ 3400	2,7	
	~ 2530	2,74	1:12
	~ 2500	3,85	
	~ 2530	2,74	1:57,5
	~ 2630	4,5	

Neuerdings kommen E. MERKEL und CH. WIEGAND (*40*) auf Grund von UV-Messungen am Diphenyl zu der Auffassung, daß das Diphenyl in Lösung und im gasförmigen Zustand nach Elektronenbeugungsaufnahmen die nichtebene Konfiguration besitzen soll, dagegen, wie Röntgenstrahlanalysen und Absorptionsmessungen zeigen, im festen Zustand die ebene Lagerung vorliegt. Berücksichtigt man die recht hohe Mesomerieenergie von Diphenyl usw., so ist es erstaunlich, daß diese Verbindungen in gelöstem Zustand überwiegend die nichtebene Konfiguration besitzen sollen. Vielmehr erscheint eine gehemmte freie Drehbarkeit einer im Zeitmittel bevorzugten ebenen Lagerung des Diphenylsystems mit allen Beobachtungen am besten vereinbar zu sein. Zur Klärung dieser Verhältnisse sind noch weitere Untersuchungen erforderlich. Man kann daher die Frage, ob die sterischen Bedingungen zum Auftreten eines Biradikals schon bei den in 2,2'-Stellung durch Methyl substituierten Diphenylen gegeben sind, noch nicht beantworten.

Die auffällige Temperaturabhängigkeit des Paramagnetismus von Lösungen von I ist nur mit der Vorstellung in Einklang zu bringen, daß bei niederer Temperatur Polymerisate vorliegen, die bei höherer Temperatur reversibel zerfallen. Diese Polymerisation und der wechselnde Paramagnetismus wären ein Ausdruck der „Belastung" der endständigen C-Atome mit radikalfördernden Gruppen.

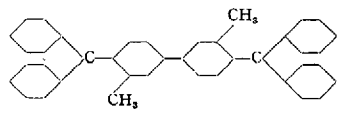
Findet z. B. eine Dimerisation statt, dann ist die entstehende Verbindung



Ph = C_6H_5 I

ohne Zweifel ein Biradikal vom Typus der Γ-substituierten Äthane. Wie zu erwarten, liegt bei I ein *Übergangstypus* zwischen den atropen und den nicht drehbehinderten Diphenylderivaten vor, wobei für den Grundzustand der Verbindung beide Biradikaltypen und die chinoide Bindungsanordnung — auch nebeneinander — denkbar sind.

b) p,p'-Bis-(diphenylmethyl)-3,3'-dimethyl-diphenyl.



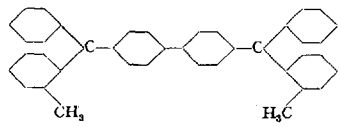
II

Der in benzolischer Lösung intensiv stahlblaue Kohlenwasserstoff weist einen temperaturabhängigen *Paramagnetismus* auf (*59*), was für das Vorliegen der zu erwartenden Polymerisationen spricht. Die sehr luftempfindliche Substanz gibt, ohne das SCHMIDLIN-Phänomen erkennen zu lassen, sofort ein Peroxyd. Die *UV-Spektren* des dem Kohlenwasserstoff entsprechenden ditertiären Carbinols kann man nicht ohne weiteres zum Nachweis der Raumlage der Kohlenwasserstoffmolekel heranziehen, da bei den weiteren Reaktionen die sterisch wichtigen Zentren berührt werden. In dem als Vorverbindung dienenden Diketon ist noch keine starke Behinderung der freien Drehbarkeit, diesmal an den exocyclischen C-Atomen festzustellen, wie der Spektrenvergleich mit dem unsubstituierten Diketon ergibt (vgl. S. 353, Abb. 11, 2). Aber die Betrachtung eines Raummodells von II läßt erkennen, daß durch die zur Diarylverknüpfung meta-ständigen Methylgruppen eine wesentlich stärkere Drehbehinderung des äußeren Phenylkerns um seine mit dem Radikal-C-Atom gebildete Achse eintritt, als bei dem in ortho-Stellung zur Diarylverknüpfung durch zwei Methylgruppen substituierten Kohlenwasserstoff.

Es stehen vermutlich in dieser Verbindung der Ausbildung eines ebenen chinoiden Systems erhebliche Widerstände entgegen, wie aber auch andererseits die Polymerisation zu Dimeren usw. behindert sein kann. Auch hier handelt es sich um einen *Übergangstypus*, ähnlich wie bei I. Die Verbindung steht den holatropen Diphenylen schon recht nahe.

Für den Grundzustand der Molekel sind wieder alle drei Möglichkeiten, zwei Biradikalarten und ein chinoides Bindungssystem (Valenztautomerie?) gegeben, deren Zuordnung weiteren Untersuchungen überlassen bleiben muß.

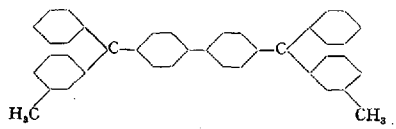
c) p,p'-Bis-(phenyl-o-tolylmethyl)-diphenyl.



III

Im Gegensatz zu I und II ist in III aus räumlichen Gründen die Ausbildung einer Doppelbindung an den „Radikal"-C-Atomen und damit die eines chinoiden Systems möglich. Die in benzolischer Lösung leuchtend violettrote, in krystallisiertem Zustand dunkelrot metallisch glänzende Verbindung ist *diamagnetisch* (*59*). Gegen Sauerstoff ist sie sehr empfindlich, ohne das SCHMIDLIN-Phänomen erkennen zu lassen. Die Verbindung ist daher kein Biradikal, sondern ähnlich wie der Grundtypus, der TSCHITSCHIBABINsche Kohlenwasserstoff, ein *Biradikaloid.*

d) p,p'-Bis-(phenyl-m-tolylmethyl)-diphenyl.



IV

Die sehr luftempfindliche, blauviolette benzolische Lösung von IV ist, wie schon aus räumlichen Gründen für IV zu erwarten war, *diamagnetisch* (*59*). Auch aus dem UV-Spektrum des entsprechenden ditertiären Carbinols und seiner großen Ähnlichkeit mit dem Spektrum der unsubstituierten Verbindung sowie aus der Unfähigkeit der Dihalogenverbindung zur Reaktion mit Pyridin, bleibt eindeutig als Formulierung dieser Substanz nur die chinoide Bindungsanordnung übrig. Auch diese Verbindung ist ein *Biradikaloid.*

2. Biradikaloide von Polyphenochinodimethiden.

a) Polypheno-p,p'-chinodimethide. Im Zusammenhang mit den anschließend wiedergegebenen theoretischen Befunden an Vertretern dieser Stoffklasse sei hier nur das zum Verständnis Wichtigste über das Verhalten dieser schon bekannten Stoffe kurz mitgeteilt. Ersetzt man in dem stabilen, farblosen Tetraphenyläthylen die Äthylendoppelbindung durch das chinoide System =⟨=⟩=, so gelangt man zu dem ersten Vertreter dieser endständig substituierten Stoffklasse der *Polyphenochinodimethide.* Der orangegelbe, gegen Luftsauerstoff verhältnismäßig noch stabile Kohlenwasserstoff (zuerst von J. THIELE hergestellt) wird bei Bestrahlung mit sichtbarem Licht unter Sauerstoffaufnahme leicht entfärbt (*102*). Diese Tatsache sei deswegen hervorgehoben, weil später hierauf zurückgegriffen wird (S. 390). Der systematische Ersatz der Phenylengruppe des THIELEschen Kohlenwasserstoffs durch weitere Phenylengruppen führt zu Stoffen, von denen einige Eigenschaften in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt sind.

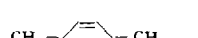
Tabelle 8. *Exocyclisch substituierte Polypheno-p-p'-chinodimethide.*

Nr.	Substituenten R	Substituenten R'	n	P	Farbe der benzolischen Lösung	Verhalten gegen O_2	Magnetismus
1	Ph	Ph (*43*)	1	1	orange	— —	diamagnetisch
2	Ph	Xe	1	1	rotorange	—	(diamagnetisch) [1]
3	Xe	Xe	1	1	rotviolett	+	(diamagnetisch) [1]
4	Ph	Ph	2	1	violettrot	+ +	diamagnetisch
5	Ph	Xe	2	1			
6	Xe	Xe (*61*)	2	?	dunkelblau	+ +	paramagnetisch [2]
7	Ph	Ph	3	2	dichroitisch, rotgrün	+ !	paramagnetisch
8	Ph	Xe	3	2	dichroitisch dunkelrot-grün	+ !	paramagnetisch
9	Xe	Xe	3	2	dichroitisch tiefdunkelrot-grün	+ +	paramagnetisch $\mu = \sqrt{6}\,\mu_B$
10	Ph	Ph	4	2	dichroitisch braunrot-grün	+ !	paramagnetisch
	Pyrenverb. (*35*), (*60*)						
11	Ph, 3	Ph, 8	4	1	tiefindigoblau	+ +	paramagnetisch [2]
12	Ph, 3	Ph, 10	4	1	tiefindigoblau	+ +	paramagnetisch [2]

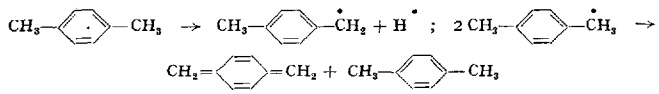
P kleinster wahrscheinlicher Polymerisationsgrad. — — sehr langsam, — langsam, + rasch, + + sehr rasch, ! SCHMIDLIN-Phänomen, [1] nicht gemessen, [2] Grenze der Nachweisbarkeit.

Bemerkenswert ist die zum Teil enorme Steigerung der Reaktionsfähigkeit und Farbigkeit durch Einführung von Phenylenringen. Bei gewissen Verbindungen, wie z. B. dem Stoff Nr. 6 und den Pyrenderivaten (Nr. 11, 12), die auch in diese Reihe hineingehören, ist der aufgefundene Paramagnetismus noch so klein, daß wegen der Fehlergrenzen der Methode hieraus kein sicherer Schluß gezogen werden kann. Beim Übergang zu den Ter- und Quaterpheno-chinodimethiden (Nr. 7 bis 10) begegnen wir der Erscheinung einer Dimerisierung zu einem Biradikal des *Γ*-Äthantypus. Von diesem Dimeren ausgehend, können reversible Polymerisationen eintreten und dementsprechend findet man auch Paramagnetismus. Am Ende dieses Abschnitts wird erläutert, warum gerade hier nicht das Monomere unter gewöhnlichen Bedingungen erscheint, sondern spontan bei der Herstellung dieser Stoffe mindestens das Dimere sich bildet.

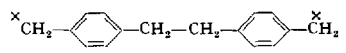
Der Grundstoff der ganzen oben genannten Reihe ist das *p,p'-Chinodimethid* selbst:



Es entsteht bei der Pyrolyse des p-Xylols, vermutlich über eine Disproportionierung des zunächst gebildeten Xylylmonoradikals:

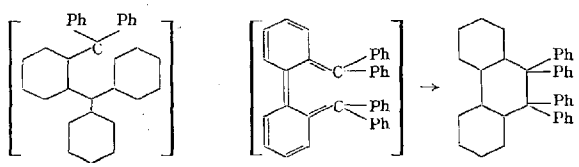


und ist in der Gasphase bei 50° C und einem Sättigungsdruck von 0,3 mm recht stabil (*92*). Sobald aber die Molekeln mit ihresgleichen oder anderen Molekeln in Berührung kommen, tritt Reaktion, im ersteren Falle Polymerisation ein. Das dabei entstehende Dimere:



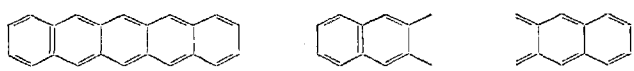
ist schon wegen der Anwesenheit von Gruppen, die eine Disproportionierungsmöglichkeit bieten (CH_2), instabil. Daher findet man im Endergebnis eine farblose, höher polymere Substanz noch unbekannter Konstitution (vgl. später S. 363).

b) Polypheno-o,o'-chinodimethide. Die von G. WITTIG versuchte Darstellung eines ortho-Biradikals (a) führte, wie schon erwähnt, unter sofortiger Stabilisierung zum 9,9',10-Triphenyl-dihydroanthracen, bei dem phenylenhomologen Stoff zu einem 9,9',10,10'-Tetraphenyl-dihydrophenanthren (b c). Es wäre von Interesse, zur Gewinnung derartiger ortho-Biradikale die neu gefundenen sterischen Bedingungen zu verwenden.



a b c

Die linear anellierten Anthracenhomologen, die *Acene*, lassen sich ebenfalls als Derivate von ortho-Chinodimethiden auffassen, z. B.

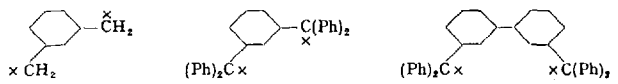


Naphthalinanteil o-Chinodimethidanteil

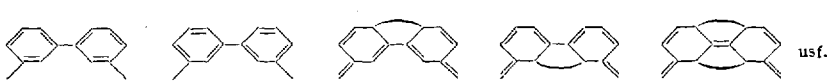
Bis zum linearen Pentacen sind diese Verbindungen magnetisch gemessen worden, sie sind alle *diamagnetisch* (*43*).

Auch das leuchtend rote 9,10,11,12-Tetraphenyl-tetracen, das *Rubren*, ist diamagnetisch (*43*). Dieser Kohlenwasserstoff ist aber so reaktionsfähig, daß er bei Bestrahlung mit sichtbarem Licht leicht Sauerstoff aufnimmt unter Entfärbung und Bildung eines reversibel spaltbaren Photo-oxyds. Die *Acene* kann man daher nach ihrem gesamten Verhalten in die Klasse der *Biradikaloide* einreihen.

c) Polypheno-m,m'-chinodimethide. Aus Erfahrung weiß man, daß reine meta-Chinone in Substanz nicht existenzfähig sind. Die quantentheoretische Rechnung (vgl. später S. 361) zeigt in Übereinstimmung hiermit, daß Systeme dieser Art bei endständiger Addition sogar einen Gewinn an ME[1] beim Additionsprodukt aufweisen, also zu sofortiger Polymerisation neigen. (Die Zahl der Valenzformeln mit maximaler Doppelbindungszahl wächst.) Auch der Einsatz der Reaktion vollzieht sich wesentlich leichter als bei einer normalen Doppelbindung. Dies ändert sich erst bei dem von SCHLENK dargestellten Kohlenwasserstoff, der in der Reihe dieser Verbindungen das erste stabile Derivat ist.



Der Grund hierfür ist derselbe wie bei den Acenen (vgl. S. 364). Das Diphenylderivat ist nach den bisher vorliegenden Ergebnissen (*43*) nicht mehr von einem Biradikal zu unterscheiden. Theoretische Gründe, auf die wir später zu sprechen kommen (vgl. S. 382), lassen es aber als möglich erscheinen, daß das hier vorliegende sterische Prinzip zur Bildung freier Biradikale noch nicht vollkommen ausreichend ist. Dies sieht man z. B. bei der Berechnung der Mesomerieenergie (vgl. S. 379) insofern, als neben der am Grundzustand der Molekel stark beteiligten Anordnung mit Kekule-Benzolringen (a, b) auch noch Valenzformeln mit formalen Bindungen [π-Bindungen über mehrere C-Atome (c bis e)] in merklichem Anteil vorhanden sein sollen.

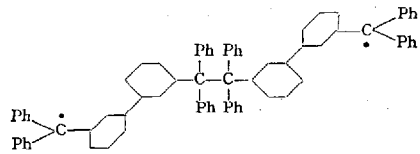


Bei diesen meta-Verbindungen spielen daher auch Valenzzustände mit einer geringeren Zahl von Doppelbindungen als bei entsprechenden para-Verbindungen eine Rolle, so daß mit einem gewissen „inneren" Valenzausgleich zu rechnen wäre. In einer klassischen Formulierung kommt dieser Bindungszustand nicht zum Ausdruck. Dieser innere Valenzausgleich soll sogar recht erheblich zur Senkung des Grundterms der Verbindung beitragen, die Wechselwirkung zwischen den Molekelhälften wird auf etwa $0{,}39\,\beta = 7{,}4$ kcal geschätzt (*89*). In die Sprache der klassischen organischen Chemie übertragen würde dies bedeuten, daß in einem geringen, aber doch merklichen Umfang auch meta-chinoide Bindungsanordnungen existenzfähig sind.

Der meta-Stoff von SCHLENK zeigt, wie zu erwarten, die Eigenschaften der reversiblen Polymerisation. Das Dimere usf. sind Biradikale,

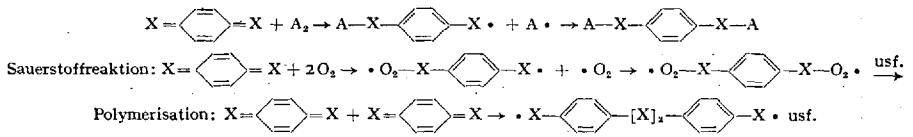
[1] ME = Mesomerie-Energie.

da in ihnen der Zusammenhalt der radikalischen „Hälften" durch ein valenzmäßig gesättigtes σ-Elektronensystem zustande kommt.



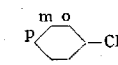
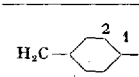
Genauere optische Untersuchungen fehlen noch, ihre Ausführung wäre zur weiteren Aufklärung des eigenartigen Bindungszustandes dieses „Metachinons" sehr wünschenswert. Trotz des außergewöhnlichen biradikalischen Verhaltens wird man daher mit der Einordnung dieses Stoffes unter die Klasse der Biradikale vorsichtig sein müssen und zunächst die Verbindung im monomeren Zustand als *Biradikaloid* betrachten.

d) Zur Deutung des reaktiven Verhaltens der Chinodimethide. Die Reaktionen der p,p'-Chinodimethide verlaufen übereinstimmend so, daß an den endständigen C-Atomen neue Atombindungen ausgebildet werden und dabei das *chinoide* System in ein *benzoides* übergeht.



Es ist anzunehmen, daß diese Reaktionen stufenweise über ein primäres, unter Umständen monoradikalisches Zwischenprodukt verlaufen. Da infolge gleichbleibender sterischer Bedingungen der Energiegewinn bei der Bildung der Einfachbindungen praktisch gleichbleibt, dürften für die vorhandenen Unterschiede im reaktiven Verhalten dieser Verbindungen die zur Änderung der π-Elektronenkonfiguration erforderlichen Arbeitsbeträge ΔA maßgebend sein. Dieser Energieaufwand ΔA_1, ΔA_2 für die Änderung der π-Elektronensysteme durch „Entkopplung" der π-Elektronen kann theoretisch in erster Näherung aus der Differenz der Zahl der Doppelbindungen unter Berücksichtigung der Änderung der Mesomerieenergie des Systems (erstes Näherungsverfahren) oder aus der Änderung der

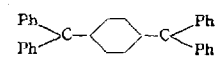
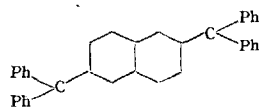
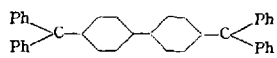
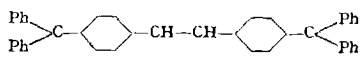
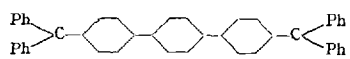
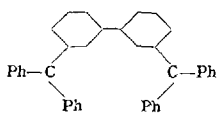
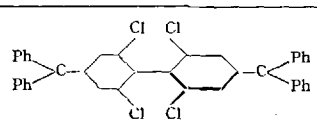
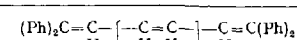
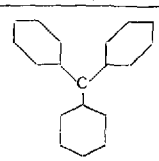
Tabelle 9. *Umlagerungsenergien ΔA_1 der ungesättigten Systeme von Phenylmethyl und p-Xylylen bei einfacher Addition nach Berechnungen von* SEEL (*88*).

Verbindung	Ort der Addition	ΔA_1
	C	0,72 β
	o	1,73 β
	m	2,56 β
	p	1,50 β
	C	1,21 β
	1	2,71 β
	2	2,21 β

Kopplungsenergie der π-Elektronen (zweites Näherungsverfahren, vgl. S. 378) berechnet werden. So läßt sich verstehen, warum die Addition gerade an den *Enden* des Systems, den exocyclischen C-Atomen einsetzt.

Einige Ergebnisse *quantentheoretischer Rechnungen* [F. SEEL (*84*), (*85*), (*86*), (*87*), (*88*)], die sich auf solche Verbindungen beziehen, finden sich in der Tabelle 10.

Tabelle 10. *Umlagerungsenergien ΔA_1 und ΔA_2 (in β) bei ein- und zweifacher Addition an die exocyclischen C-Atome nach Berechnungen von* SEEL (*88*). *(Mittel aus Werten für koplanare bzw. senkrechte Stellung der endständigen Phenylgruppen [Ph].)*

Nr.	Substanz	ΔA_1	ΔA_2
1		1,93	2,91
2		1,54	2,81
3		1,48	2,77
4		1,47	2,79
5		1,41	2,72
6		1,26	2,52
7		1,26	2,52
8		1,90	3,46
9		1,26	

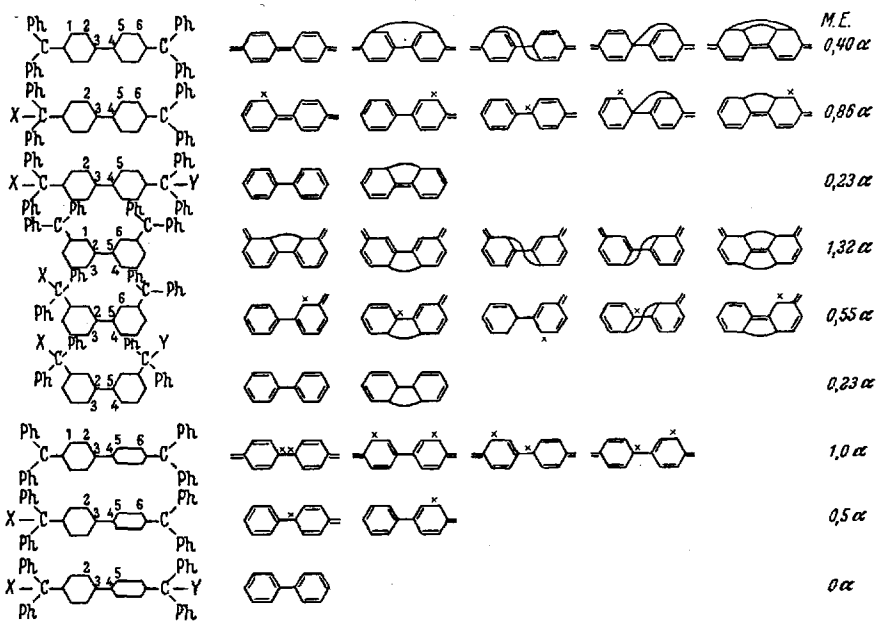
Von den charakteristischen Vertretern der Biradikale (Nr. 7 und eventuell 6) und der *Biradikaloide* (Nr. 3) erweist sich Nr. 3 (Tabelle 10)

am reaktionsträgsten, weil die *Änderung* der Energie ΔA_1 des ungesättigten Systems zur Bildung der ersten monoradikalischen Zwischenstufe am größten ist. Bei Nr. 7 und 6 sind für beide Stufen der Addition nur die gleichen Energiebeträge erforderlich, wie bei einer einfachen Addition an das monoradikalische Triphenylmethyl. Auch hierin kommt die weitgehende „Selbständigkeit" der beiden Radikalhälften in den typischen Biradikalen zum Ausdruck.

Eine von F. SEEL (*84*), (*85*), (*88*) durchgeführte vollständige Durchrechnung dieses Problems ergibt, daß der erste Schritt der Bindungsbetätigung auch bei diesen Polyphenochinodimethiden keinen wesentlich größeren Energiebetrag erfordert als bei den freien Radikalen, so daß von dieser Seite aus betrachtet das radikalartige Verhalten derartiger Stoffe verständlich erscheint.

Zu den Ergebnissen dieser Berechnungen kann man einwenden, daß die berechneten Umlagerungsenergien ΔA_1 usf. nur kleine Differenzen großer Zahlen sind und daß auch innerhalb dieser kleinen Differenzen wieder nur relativ kleinere Unterschiede sich ergeben. Daher ist es erstaunlich, daß trotzdem eine sehr gute Übereinstimmung zwischen dem Gang der berechneten Werte und der Abstufung des reaktiven Verhaltens besteht, so wie es z. B. in der Peroxydbildung und der Polymerisationsneigung aufgefunden worden ist. Die Peroxybildung verläuft in der angegebenen Reihe mit zunehmender Geschwindigkeit, Tage bei Nr. 1, Tabelle 10.

Tabelle 11. *Valenzformeln zum Verlauf von Additionsreaktionen an den* TSCHITSCHIBABIN*schen Kohlenwasserstoff, den* SCHLENK*schen Kohlenwasserstoff und an ein atropes Biradikal.*



(Aufgezeichnet sind nur die Valenzformeln, die sich in der Lokalisierung der von den numerierten C-Atomen ausgehenden Bindungen unterscheiden.) [SEEL (*88*).]

Stunden bei Nr. 2, Minuten bei Nr. 3 und Sekunden bei Nr. 4, und bei Nr. 5 macht sich bereits die Polymerisation bemerkbar.

Zur anschaulichen Deutung der Ursache des biradikalähnlichen Verhaltens der *p-Chinodimethide* seien (nach SEEL) in der Tabelle 11 die Valenzformeln der Additionsreaktionen von Nr. 3, 6 und 7 der Tabelle 10 wiedergegeben (erstes Näherungsverfahren). Außer der Änderung der Zahl der Doppelbindungen bei diesen Additionen ist die Änderung der Mesomerieenergie der verschiedenen Stoffe von besonderer Bedeutung. Sie ist hier recht groß, da bei den Ausgangsstoffen nur *eine* Valenzformel mit maximaler Zahl der Doppelbindungen vorhanden ist, dagegen bei den Endprodukten um so mehr, je größer die Zahl der aromatischen Ringe ist.

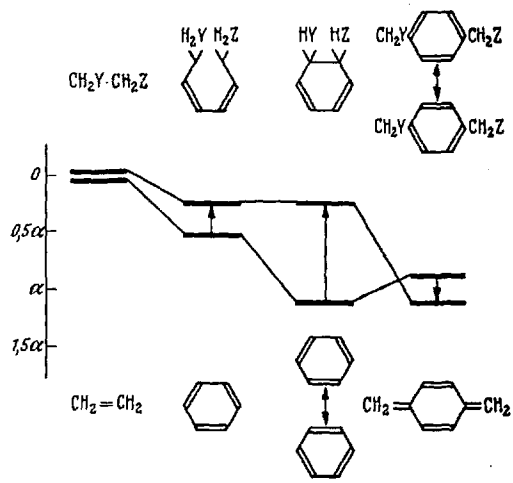


Abb. 13. Mesomerieenergie von Äthylen, Hexatrien, Benzol und *p*-Xylylen und deren Änderungen bei Additionsreaktionen.

Mit diesen Vorstellungen steht auch die Größe und Temperaturabhängigkeit des bei den Terpheno- und Quaterphenochinodimethiden gefundenen Paramagnetismus im Einklang. Fernerhin wird die Richtigkeit dieser Vorstellungen auch durch das Verhalten der unverzweigten Polyene bestätigt, die ja vor und nach der endständigen Addition nur eine Valenzformel mit maximaler Zahl der Doppelbindungen aufweisen, diamagnetisch sind (*49*) und sich somit nicht typisch biradikalartig verhalten.

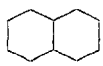
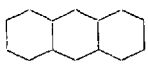
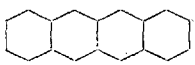
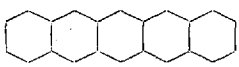
Die Unbeständigkeit des einfachsten Vertreters dieser Stoffklasse, des p,p'-Chinodimethids, läßt sich ebenfalls verstehen aus der geringen Änderung der Entkopplungsenergie der π-Elektronen beim Übergang chinoid → benzoid bzw. aus dem Gewinn an Mesomerieenergie beim stufenweisen Übergang Chinon → Monoradikal → aromatisches System. Das geht anschaulich aus einem von SEEL gegebenen Schema hervor (*87*), in dem die Mesomerieenergie der Grundterme vor und nach der Addition für verschiedene Typen ungesättigter Verbindungen aufgezeichnet sind (Abb. 13).

Für *Olefine* bleibt die Zahl der Valenzformeln mit maximaler Zahl der Doppelbindungen nach Additionen gleich (gleich 1). Die Änderung der Mesomerieenergie ist klein, da sie im wesentlichen nur durch die am Grundzustand weniger beteiligten und energetisch bedeutungsloseren „angeregten" Zustände (Valenzformeln mit

formalen Bindungen) bewirkt wird. *Aromatische Verbindungen* zeigen, daß bei Additionen die Zahl der unangeregten Valenzzustände (maximale Doppelbindungszahl) mindestens um eins erniedrigt wird, was energetisch stärker zum Ausdruck kommt. Ganz anders aber verhalten sich die *Chinodimethide*. Bei ihnen nimmt die Zahl der unangeregten Valenzzustände bei endständiger Addition sogar zu, hier ist bei Additionen ein Gewinn an Mesomerieenergie möglich.

Auch die mit zunehmender Zahl der Ringe wachsenden Biradikaleigenschaften der Acene sind auf die relativ geringe Entkopplungsenergie der π-Elektronen beim Übergang chinoid → benzoid zurückzuführen. Dies geht sehr augenfällig aus der Zunahme der Formeln mit maximaler Doppelbindungszahl bei Additionen an den Meso-Stellungen hervor (vgl. Tabelle 12).

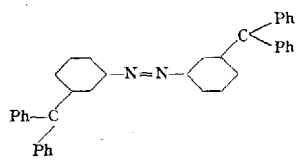
Tabelle 12. *Zahl der unangeregten Valenzformeln (z) von Acenen und ihren radikalischen Monoadditionsprodukten*
[Berechnungen von F. SEEL (*87*)].

Substanz	z	Ort der Addition	z
	3	**1**	**7**
		2	6
		9	5
	4	1	12
		2	10
		9	**16**
	5	1	18
		2	25
		5	**27**
	6	1	25
		2	21
		5	32
		6	**45**

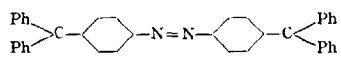
Die Berechnung der Mesomerieenergie für die verschiedenen Zustände der Chinodimethidmolekel (vgl. später S. 382) liefert nach den beiden zur Verfügung stehenden theoretischen Methoden (Valenzbindungsmethode, erstes Näherungsverfahren und Methode der molekularen Elektronenbahnen, zweites Näherungsverfahren) noch keine gute Übereinstimmung der Energiewerte (*7*). Immerhin läßt sich so viel sagen, daß bei Zimmertemperatur der Zustand der Molekel am besten mit der chinoiden Formel vereinbar ist. Das *biradikalartige Verhalten* der *Polyphenochinodimethide* ist daher nur eine Frage der Größe der Entkopplungsenergie von Teilen ihrer π-Elektronensysteme (Übergang chinoid → benzoid), beruht also auf der bei diesem Übergang zu gewinnenden *Mesomerieenergie*. Das Vorliegen eines solchen Mesomerieeffektes hat aber an sich noch nichts mit dem Auftreten wirklicher Biradikale zu tun.

e) Azo-ditrityle. Zum Abschluß dieser Gruppe von Verbindungen und zur Überleitung in die nächste Stoffklasse seien hier noch zwei Verbindungen besprochen, die sich von den im vorangehenden geschilderten dadurch unterscheiden, daß sie die beiden Phenylkerne des Diphenylsystems durch eine N=N-Brücke entweder in meta- oder in para-Stellung miteinander verbunden enthalten. Diese beiden

Verbindungen, *Azo-di-triphenylmethyle*,



A



B

die G. WITTIG dargestellt hat (*107*), bieten in ihrem Verhalten nichts grundsätzlich Neues. In magnetischer Hinsicht sind sie noch nicht untersucht worden, aber aus ihrem sonstigen chemischen und physikalischen Verhalten folgt, daß die meta-N-Verbindung ein Analogon zum SCHLENKschen Kohlenwasserstoff, die para-N-Verbindung ein Analogon zum TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoff ist. Beide N-Verbindungen gehören als *Monomere* dem *Biradikaloid*-Typus an, wohingegen die Dimeren in beiden Fällen zu den Γ-substituierten Biradikalen der „Äthanreihe" zu rechnen wären. Lediglich bei der meta-Verbindung hätte man mit einer nur geringen Beeinflussung der beiden π-Elektronen-Teilsysteme der Molekelhälften und daher weitgehende Annäherung an den Biradikalzustand zu rechnen. Etwas anders gestalten sich die Dinge aber dann, wenn die Stickstoffatome selbst als Radikal„träger" auftreten.

VI. Stickstoff-Mono- und Biradikale, Stickstoff-Biradikaloide.

Das Problem des Bindungszustandes der Biradikale und Biradikaloide erscheint bei den stickstoffhaltigen Verbindungen in nur wenig abgewandelter Form. Das untersuchte Material ist allerdings im Gegensatz zu den Kohlenstoffverbindungen recht dürftig. Weiterhin bedingt die verschiedene Stellung des Zentralatoms im Periodensystem gewisse, wenn auch nicht grundsätzliche Unterschiede. Da außerdem die Anwesenheit der Heteroatome die theoretische Berechnung sehr erschwert, liegen auch in dieser Hinsicht keine wesentlichen Fortschritte vor. Die Besonderheiten des N-Atoms gegenüber dem C-Atom haben aber bei der Untersuchung einer N-Verbindung (Porphyrindin) zu Ergebnissen geführt, die auch für die allgemeine Theorie des Biradikalzustandes von Bedeutung sind.

Man muß sich zunächst die Frage vorlegen, ob auch diese N-Radikale z. B. in magnetischer Hinsicht den an C-Radikalen gefundenen Beziehungen gehorchen oder andere Verhältnisse maßgebend sind. Zumal im Hinblick auf die verschiedenen Wertigkeitsstufen, die bei N-Radikalen möglich sind, seien daher die Versuchsergebnisse über den Magnetismus von N-Monoradikalen zuvor kurz erörtert.

1. Monoradikale.

Die einer Homolyse des Hexaphenyläthans entsprechende Homolyse tetrasubstitutierter Hydrazine

$$(R)_2N—N(R)_2 \rightleftharpoons 2\,(R)_2N\cdot$$

ist magnetisch noch nicht untersucht worden. Dagegen liegt ein Beispiel aus der Tetrazanreihe vor:

$$(R)_2N—N(R)—N(R)—N(R)_2 \rightleftharpoons 2\,(R)_2N—\dot{N}(R).$$

Das *α,α-Diphenyl-β-trinitrophenyl-hydrazin* zeigt einen temperatur*un*abhängigen Paramagnetismus, der einer Magnetonenzahl von $\mu = \sqrt{3}\,\mu_B$ entspricht (*30a*), (*44*). Es gilt das Curie-Gesetz mit recht kleinen Δ-Werten. Die Molekel ist daher in festem Zustand und in Lösung auch bei tiefen Temperaturen als ein *freies N-Monoradikal* anzusehen, sie befindet sich im $^2\Sigma_{\frac{1}{2}}$-Zustand (Grundzustand).

Tabelle 13. *Magnetisches Verhalten von Stickstoffmonoradikalen (44), (45).*

Verbindung	Δ	μ_B
$\left(CH_3O-C_6H_4-\right)_2\dot{N}=O$	— 3°	1,71
$(CH_3)_2C(C_6H_5)-N(\cdot)=O \quad CH_2-C(CH_3)=N^{\oplus}(C_6H_5)-O^{\ominus}$	— 2°	1,76
$(CH_3)_2C(=O)-N(\cdot)-C(=NH)-NH-C(=O)-H$	— 6°	1,76
$(C_6H_5)_2N-N(\cdot)-C_6H_2(NO_2)_3$	— 10°	1,74

Auch Radikale des *4wertigen Stickstoffs* befolgen sogar recht streng das Curie-Gesetz und liefern nebenstehende Magnetonenwerte (Tabelle 13).

Die *Aminiumsalze* von E. WEITZ (*47*), (*70*), die Radikalkationen sind, zeigen ebenfalls einen starken Paramagnetismus. Hier schließen sich die von L. MICHAELIS genauer untersuchten *Meri-* oder *Semichinone* an (*41*), (*42*), (*99*). Es steht somit außer Zweifel, daß das Vorhandensein eines *„freien" Elektrons* auch in den *Stickstoffverbindungen* zu denselben *Erscheinungen* und *Gesetzmäßigkeiten* führt wie bei den Kohlenstoffradikalen.

2. Das Stickstoffmonoxyd.

Die einzige bisher bekannte Ausnahme ist das *Stickstoffmonoxyd*. Es besitzt im Gegensatz zu den organischen Radikalen einen $^2\Pi$-Term. Die Projektion von L in Richtung der Molekelachse $\left(L \cdot \frac{h}{2\pi} = \text{mechanisches Bahnmoment}\right)$ ist demnach nicht Null, sondern eins. Aus der Multiplizität 2 folgt $S = 1/2$. Die Projektionen von Σ (nicht identisch mit dem Σ des Σ-Terms, eine mißverständliche, aber leider gebräuchliche Ausdrucksweise) auf die Figurenachse können $+1/2$ und $-1/2$ sein. Demnach gibt es zwei Zustände der NO-Molekel ($^2\Pi_{\frac{1}{2}}$ und $^2\Pi_{\frac{3}{2}}$), bei denen die

mechanischen Gesamtmomente der Elektronen um die Figurenachse $\left(1-\frac{1}{2}\right)\cdot\frac{h}{2\pi}$ und $\left(1+\frac{1}{2}\right)\frac{h}{2\pi}$, also $\frac{1}{2}\cdot\frac{h}{2\pi}$ und $\frac{3}{2}\cdot\frac{h}{2\pi}$ sind. Die entsprechenden *magnetischen Momente* folgen aus $\mu=(\Lambda+2\Sigma)\,\mu_B$ mit $\Lambda=1$ und $S=\pm 1/2$ zu

$$\mu_1=(1-2\cdot\tfrac{1}{2})\,\mu_B=0$$
$$\mu_2=(1+2\cdot\tfrac{1}{2})\,\mu_B=2\,\mu_B\,.$$

Von diesen beiden Zuständen der NO-Molekel ist der unmagnetische $^2\Pi_{\frac{1}{2}}$-Zustand der energieärmere ($T=0°$). Bei höheren Temperaturen, auch schon bei Zimmertemperatur, liegen die Verhältnisse anders. Die Kopplung zwischen dem Spin- und Bahnmoment ist nicht sehr fest. Es kommt dies auch in der spektroskopisch gemessenen Energiedifferenz zwischen dem $^2\Pi_{\frac{1}{2}}$ und $^2\Pi_{\frac{3}{2}}$-Zustand zum Ausdruck, die nur 0,6 kT beträgt. Bei steigender Temperatur wird daher neben dem diamagnetischen $^2\Pi_{\frac{1}{2}}$-Zustand auch der paramagnetische $^2\Pi_{\frac{3}{2}}$-Zustand angeregt. Schließlich wirkt sich die Temperaturenergie dahin aus, daß die Kopplung zwischen Spin- und Bahnmoment praktisch aufgehoben wird. Strenggenommen tritt diese Entkopplung vollständig erst bei $T=\infty$ ein. Hier wäre das NO ein wirkliches freies Monoradikal. Sein *magnetisches Moment* ist dann:

$$\mu=\sqrt{4S(S+1)+\Lambda^2}\,\mu_B=\sqrt{3+1}\,\mu_B=2\,\mu_B\qquad(\Lambda=1)\,.$$

Bei Zimmertemperatur ist das magnetische Moment des NO $\mu=1{,}84\,\mu_B$, nähert sich also dem Grenzwert $2\,\mu_B$ für ein freies Monoradikal im Π-Zustand und ist von dem unmagnetischen $^2\Pi_{\frac{1}{2}}$-Zustand schon weit entfernt.

Wegen dieser Kopplung von Bahn- und Spinmoment besitzt das NO einen *diamagnetischen Tieftemperaturzustand* und einen *paramagnetischen Hochtemperaturzustand*. Im strengen Sinne ist daher das *Stickstoffmonoxyd* nur als ein radikalähnliches Gebilde, *ein Radikaloid* zu bezeichnen.

Die Verhältnisse beim NO rühren von der besonderen Symmetrie der Molekel her. Es sei betont, daß dies der einzige Ausnahmefall bei freien Radikalen ist, der bisher bekannt wurde. In allen übrigen Fällen ist das Bahnmoment zu vernachlässigen, und die Radikale befinden sich in dem theoretisch etwas einfacher zu fassenden Σ-Zustand.

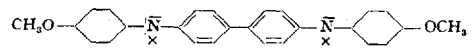
3. *Biradikale.*

Wir dürfen daher ad hoc erwarten, daß auch für die Homolyse einer N=N-Doppelbildung im Prinzip die gleichen Bedingungen Geltung haben wie bei der Homolyse einer C=C-Doppelbindung: Vereinzelung der beiden an der Doppelbindung beteiligten π-Elektronen und Vorhandensein sterischer Faktoren könnten daher auch hier die Grundlage zum Auftreten freier N-Biradikale sein. Wegen der anderen räumlichen Lage der „dreibindigen" N-Atome gegenüber den vierbindigen C-Atomen werden die sterischen Verhältnisse hier aber anders und sicher nicht leicht zu realisieren sein.

In *magnetischer* Hinsicht ist daher von einem *N-Biradikal* ein temperatur*un*abhängiges *paramagnetisches Gesamtmoment* von $\mu=\sqrt{6}\,\mu_B$ zu fordern. In *optischer* Beziehung müßte sich das Vorliegen einer

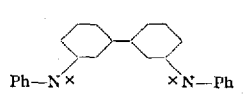
weitgehenden Unabhängigkeit der beiden *π-Elektronen-Teilsysteme* nachweisen lassen.

Aus präparativen Gründen gelang es bisher nicht, das N-Analogon zum TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoff zu untersuchen. Das Di-p-anisyl-diphenylen-hydrazyl

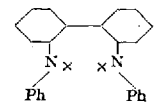


dürfte im monomeren Zustand wohl ein typisches Biradikaloid mit überwiegend chinoider Bindungsanordnung sein.

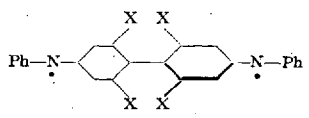
Zu Vergleichszwecken fehlen die anderen Substanzen:



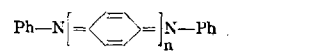
a



b



c



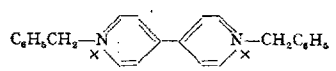
n = 1, 2, 3, 4 ...

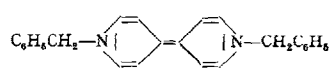
d

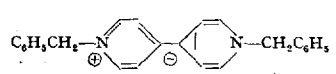
Stoffe der Art c und die Dimeren von d sollten — wenn überhaupt — als N-Biradikale existenzfähig sein.

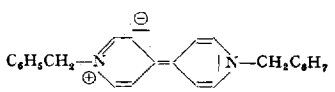
4. Biradikaloide.

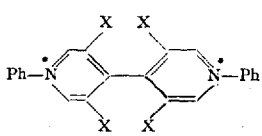
a) Dipyridinium-Verbindungen. Die N-Atome können sowohl als „Radikalzentren" wie auch gleichzeitig als Glieder eines Ringsystems auftreten. Man kommt so zu *Dipyridinium*-Verbindungen mit para-, meta- und ortho-Stellungen der N-Atome. Das *p,p'-Dibenzyl-γ,γ'-dipyridinium* (*98*) ist in gewisser Weise auch ein Analogon zum TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoff. Bei einer N-biradikalischen Anordnung müßte allerdings den N-Atomen ein Elektronen-nonett zugewiesen

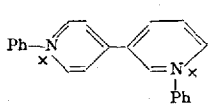










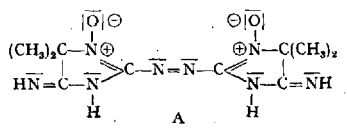


n = 1, 2, 3.

werden. Das bedeutete, anders gesehen, Alkalimetallähnlichkeit. Dafür spräche manches, aber der Stoff ist *diamagnetisch* (*47*). Er ist demnach als *Biradikaloid* mit chinoider Bindungsanordnung zu formulieren. Wegen der leichteren Polarisierbarkeit der N-Atome ist auch mit dem Vorhandensein von polaren Formeln hier mehr als bei den symmetrischen C-Verbindungen zu rechnen. Es wäre von Interesse zu erfahren, wie sich an diesen γ,γ'-Dipyridinium-Verbindungen eine Querstellung der beiden Pyridinringe zueinander, die meta-Stellung oder das Dazwischenschalten mehrerer Phenylenringe auswirken würde.

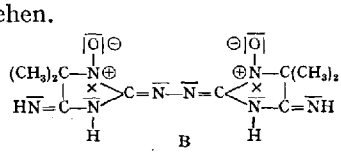
b) Porphyrindin. Von den Verbindungen mit zwei „vierwertigen" Stickstoffatomen ist bisher nur ein Vertreter, das *Porphyrindin*, näher untersucht worden, bei dem sich sehr aufschlußreiche Feststellungen treffen ließen.

Man könnte annehmen, daß wegen des Fehlens zusätzlicher sterischer Faktoren das Porphyrindin eine normale „chinoide" Bindungsanordnung besitzt und diamagnetisch ist.



A

Dieser Stoff steht in formaler Analogie zu dem von WITTIG dargestellten, ebenfalls diamagnetischen Äthylenderivat VIII (vgl. S. 346). Aber wegen der engen Beziehungen des Porphyrindins, eines schwer löslichen, tiefblauen Stoffes mit hohem Redoxpotential, zu seiner monoradikalischen „Hälfte", dem Porphyrexid, hat man es schon lange als ein Biradikal mit zwei vierwertigen N-Atomen angesehen.



B

Tabelle 14. *Temperaturabhängigkeit des Paramagnetismus vom Porphyrindin.*

T	$\chi_p \cdot 10^6$	μ_{eff}	μ_{ber}
348	1868	2,29	2,45
291	2136	2,23	2,45
195	2760	2,08	2,45
90	3056	1,48	2,45

Die eingehende magnetische Untersuchung (*31*), (*45*) ergab das Vorliegen eines sehr beträchtlichen *Paramagnetismus*, der allerdings ganz außergewöhnlich *temperaturabhängig* ist. Die aus den gemessenen Suszeptibilitäten berechneten Magnetonenwerte und ihre Temperaturabhängigkeit sind in Tabelle 14 zusammengestellt.

Bei höheren Temperaturen nähern sich die Magnetonenwerte sehr dem für ein Biradikal zu erwartenden Wert von $\mu = \sqrt{6}\,\mu_B$. Würde die Molekel im Zeitmittel eine ebene Lagerung einnehmen, so wäre der

theoretisch zu fordernde Wert $\mu = \sqrt{8}\,\mu_B$. Wegen der Schwerlöslichkeit der Verbindung ist man leider auf die Messungen im festen Zustand angewiesen. Genauere optische Untersuchungen fehlen. Man wird annehmen dürfen, daß die Molekeln des Porphyrindins bei höheren Temperaturen sich in einem Triplettzustand befinden (vgl. später S. 371, 376). Bei tiefen Temperaturen und damit im Grundzustand ist die Verbindung diamagnetisch. Aus der magnetischen Messung der Temperaturabhängigkeit dieses thermischen Gleichgewichts kann man die Änderung der Gesamtenergie beim Übergang der para- in die diamagnetische Form des Porphyrindins zu 0,6 kcal/Mol abschätzen. Überblickt man das bisher bekannt gewordene Tatsachenmaterial, so kann man mit hoher Wahrscheinlichkeit sagen, daß das *Porphyrindin* kein Biradikal, sondern ein *Biradikaloid* ist.

VII. Biradikal, Biradikaloid, Biradikalett.

1. Zur theoretischen Deutung und Begriffsabgrenzung.

Das vorhandene reichhaltige experimentelle Material gestattet es, die Bedingungen zum Auftreten freier Biradikale genauer kennenzulernen, den Begriff Biradikal selbst neu zu fassen und zu präzisieren sowie die gewonnenen theoretischen Erkenntnisse unter Benutzung weiteren Versuchsmaterials auf das Gesamtgebiet aller ungesättigten Verbindungen zur Klärung des Radikalzustandes solcher Stoffe auszudehnen.

Um zu dieser theoretischen Deutung der etwas verwickelten Verhältnisse und zu einer klaren Begriffsbildung zu kommen, vergegenwärtigt man sich am besten noch einmal das Verhalten der Biradikale und Biradikaloide an drei charakteristischen Vertretern:

1. den holatropen Diphenylverbindungen,
2. dem Porphyrindin,
3. dem TSCHITSCHIBABINschen KW-Stoff.

Die holatropen Diphenylderivate verhalten sich nach allen bisher aufgefundenen Tatsachen wie verdoppelte Monoradikale. Ihre π-Elektronen-Teilsysteme sind so weitgehend wie irgend möglich unabhängig voneinander. Man kann daher sagen:

Biradikale sind Verbindungen mit zwei, jeweils für sich ungeradzahligen, mesomer voneinander unabhängigen π-Elektronen-Teilsystemen. Für das magnetische Verhalten folgt daraus ein temperaturunabhängiges paramagnetisches Gesamtmoment von

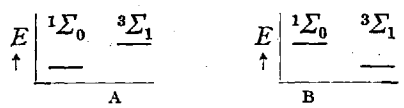
$$\boxed{\mu = \sqrt{2}\cdot\sqrt{3}\;\mu_B = \sqrt{6}\,\mu_B}.$$

Jedes der beiden π-Elektronen-Teilsysteme liegt in einem $^2\Sigma_{\frac{1}{2}}$-Zustand vor. In optischer Beziehung läßt sich die weitgehende Unabhängigkeit der beiden Molekelhälften nachweisen, und bezüglich des allgemeinen, chemischen Verhaltens finden wir alle Eigenschaften der Monoradikale, nur verdoppelt, wieder.

Auch das Porphyrindin enthält zwei, jeweils für sich ungeradzahlige π-Elektronen-Teilsysteme. Wie aber aus dem magnetischen Verhalten und in anderen, ähnlichen Fällen, auch aus den optischen Befunden hervorgeht, sind diese π-Elektronen-Teilsysteme nicht mesomer weitgehend *un*abhängig voneinander, sondern stehen in einer Wechselwirkung *mit*einander. Alle Verbindungen dieser Art enthalten zwei Einzel- (odd)-Elektronen, deren Spinmomente sich entweder antiparallel ($\uparrow\downarrow$) oder parallel ($\uparrow\uparrow$) zueinander einstellen können. Mit anderen Worten, Verbindungen dieser Art besitzen *Singulett-* und *Triplettzustände.*

Dasselbe gilt natürlich auch für den dritten Fall, den TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoff. Hier liegt wegen des vorhandenen Diamagnetismus im wesentlichen nur der Singulettzustand als Grundzustand vor.

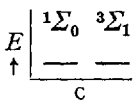
Die *Grenzlagen* der für eine solche Verbindung möglichen Singulett- und Triplettzustände kann man allgemein so darstellen:



wobei $E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0} = \Delta E$ und $\Delta E \gg kT$ sein soll.

Der Fall A entspricht z. B. der Doppelbindung des Äthylens. Aber auch für den Fall B ist ein Beispiel bekannt, der Sauerstoff. Die O_2-Molekel befindet sich „normalerweise" im $^3\Sigma_1$-Zustand, genauer in dem spektroskopisch festgelegten $^3\Sigma_g^-$-Zustand. Das *Verhältnis* der *gegenseitigen Termlagen* ist nun für das *magnetische Verhalten maßgebend.* Verbindungen nach A sind im Grundzustand diamagnetisch, $\mu = 0$ im Fall B dagegen paramagnetisch mit einem Gesamtspinmoment von $\sqrt{8}\,\mu_B$ (parallele Spins!).

Besonders interessant sind die Verhältnisse dann, wenn beide Terme energetisch gleich begünstigt sind, also die gleiche Lage in dem obigen Termschema einnehmen:



$$\Delta E = 0.$$

Der Fall C bedeutet, daß in dem bei der betreffenden Temperatur praktisch besetzten Teil des Spektrums jeweils ein *Singulett* mit einem *Triplett-Term* (im Grundzustand) *entartet* ist.

Strenggenommen liegt eine „exakte" Entartung nicht vor, da der Triplett-Term sich aus einer Gruppe von Einzeltermen zusammensetzt, man also nur mit dem Schwerpunkt der Triplett-Terme rechnen kann.

Was *bedeutet diese Singulett-Triplett-Entartung* für das *magnetische Verhalten?* Nach dem Verteilungsgesetz der Quantenstatistik ist die Zahl der Molekeln, die sich bei einer Temperatur T im $^1\Sigma_0$ und $^3\Sigma_1$-Zustand befinden:

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-\frac{\Delta E}{kT}}, \qquad \Delta E = E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0},$$

k = BOLTZMANN-Konstante.

Das Verhältnis der Molekeln Triplett-: Singulettzustand wird daher von dem Verhältnis $\Delta E/kT$ abhängen, d. h. für $\Delta E = 0$, also Entartung, wird $\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1}$. Daraus folgt für die molare Suszeptibilität

$$\chi_{\text{mol}} = \tfrac{1}{4}\,(1 \cdot {}^1\chi_{\text{mol}} + 3 \cdot {}^3\chi_{\text{mol}})$$

(Die hochgestellten Indices bedeuten die Herkunft des Magnetismus, ^{1} = Dia- ^{3} = Paramagnetismus.)

und wegen der Proportionalität von χ und μ^2

$$\left(\chi_P = \frac{\beta^2 \mu_B^2}{3RT}, \qquad \begin{array}{l}\beta = \text{BOHRsches Magneton,}\\ R = \text{Gaskonstante}\end{array}\right)$$

wird das magnetische Gesamtspinmoment

$$\mu^2 = \tfrac{1}{4}\,({}^1\mu_B^2 + 3 \cdot {}^3\mu_B^2) = \tfrac{1}{4}\,(0 + 3 \cdot 8)\,\mu_B^2 = 6\,\mu_B^2,$$

$$\boxed{\mu = \sqrt{6}\,\mu_B}.$$

Dieses Moment ist — ein monomeres Biradikal vorausgesetzt — temperatur*un*abhängig.

Ist also die Energiedifferenz ΔE gleich Null oder annähernd gleich Null, dann wird dieser Fall identisch mit dem eingangs betrachteten, in dem sich die π-Elektronen der beiden Teilsysteme praktisch nicht beeinflussen. Beide Betrachtungen führen daher zu demselben Ergebnis und zeigen, daß Biradikale als „verdoppelte Monoradikale" aufzufassen sind.

Zu Anfang der vorliegenden Arbeit war bereits darauf hingewiesen worden, daß strenggenommen ein Biradikal nur dann als solches existenzfähig ist, wenn die beiden Einzel-(odd)-Elektronen unendlich weit voneinander entfernt sind. Andernfalls ist immer mit einer gegenseitigen Beeinflussung der beiden π-Elektronen-Teilsysteme zu rechnen. Dies ist natürlich unmöglich, und man kann daher Biradikale nur in größter Annäherung an diese theoretisch geforderten Verhältnisse gewinnen. Hiermit hängt es auch zusammen, daß man sowohl durch die Auffassung eines Biradikals als eines verdoppelten Monoradikals wie auch durch Betrachtung der gegenseitigen Beeinflussung zweier „vereinzelter" π-Elektronen im Grenzfall $\Delta E = 0$ zu demselben Ergebnis für die Größe des magnetischen Gesamtspinmoments $\mu = \sqrt{6}\,\mu_B$ gelangen muß. Die letztere Betrachtungsweise ist den realen Verhältnissen mehr angepaßt, wie wir später sehen werden.

Welche Bedingungen maßgebend dafür sind, daß im Grundzustand gewisser Molekeln eine Entartung $^1\Sigma_0 \rightarrow {}^3\Sigma_1$ vorliegt, kann man aus den bisher vorliegenden experimentellen Befunden ableiten. Irgendwie, z. B. durch sterische Faktoren, müssen die beiden π-Elektronen-Teilsysteme so voneinander getrennt sein, daß sie sich praktisch nicht mehr wesentlich beeinflussen. Man kann daher definieren:

Biradikale sind Verbindungen, bei denen bei mittleren Temperaturen die Energiedifferenz ΔE, also der Triplett-Singulett-Abstand, annähernd gleich Null ist.

$$\boxed{E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0} = \Delta E = 0}.$$

Inhaltlich ist diese Definition identisch mit der aus den chemischen Erfahrungen abgeleiteten: Vorhandensein zweier, jeweils für sich ungeradzahliger, mesomer voneinander weitgehend unabhängiger π-Elektronen-Teilsysteme.

Wie liegen die Verhältnisse dann, wenn z. B. ein *thermisch anregbares Gleichgewicht* zwischen den beiden Zuständen $^1\Sigma_0$ und $^3\Sigma_1$ besteht?

Es ist dann $\Delta E \sim k\,T$. Variiert man bei gegebenem endlichen *positiven* ΔE die Temperatur, dann wird für $T \rightarrow 0$ $\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} \sim 0$, also $n_{^1\Sigma_0}$ sehr groß, d. h. der Triplettzustand spielt praktisch keine Rolle, und die Verbindung liegt ganz überwiegend in einem diamagnetischen Zustand vor ($\mu = 0$ oder $\rightarrow 0$). Wird dagegen $T \rightarrow \infty$, so ist $\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} \sim \frac{3}{1}$, woraus, wie oben, ein magnetisches Moment von $\sqrt{6}\,\mu_B$ folgt. Das magnetische Moment kann daher in diesem Fall alle Werte $0 < \mu \leq \sqrt{6}\,\mu_B$ annehmen, der $\sqrt{6}\,\mu_B$-Wert wird theoretisch erst bei $T = \infty$ erreicht! Verbindungen dieser Art sind aber die Biradikaloide. Aus dem vorliegenden Tatsachenmaterial läßt sich schließen, daß für das Auftreten der Biradikaloide ein Teil der konstitutionellen Voraussetzungen notwendig ist, der auch bei Biradikalen vorhanden sein muß. Zum Unterschied von den letzteren ist aber ein zusätzlicher sterischer Effekt *nicht* erforderlich. Im Gegenteil, seine Abwesenheit ist notwendig, damit sich Biradikaloide ausbilden können (Mesomerie). Man kann daher sagen:

Biradikaloide sind Verbindungen, bei denen bei mittleren Temperaturen die Energiedifferenz ΔE, also der Triplett-Singulett-Abstand größer als Null und vergleichbar mit $k\,T$ wird.

$$\boxed{E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0} = \Delta E \underset{\sim}{>} 0 \; k\,T}.$$

Der ΔE-Wert kann aber auch negativ sein, wenn nämlich der Triplettzustand niedriger als der Singulettzustand liegt. Dann erhält

man bei endlichen Werten $|\Delta E|$ und einer Temperaturänderung von Null bis ∞ für $T = 0$:

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-\frac{-\Delta E}{0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{\infty},$$

d. h. in diesem Grenzfall ist praktisch nur der Triplettzustand vorhanden. In magnetischer Hinsicht ist dann ein Gesamtmoment von $\sqrt{8}\,\mu_B$ zu erwarten. Wird dagegen T sehr groß, dann ist

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-\frac{-\Delta E}{\infty}} = \frac{3}{1} \cdot e^{0} = \frac{3}{1},$$

d. h. die Verbindung nähert sich dem Wert von $\sqrt{6}$ BOHRschen Magnetonen. Liegt demnach ein *Gleichgewicht* zwischen dem *niedrigsten Triplett-* und dem *höheren Singulettzustand* vor, dann kann das *Gesamtmoment* die Werte zwischen den Grenzen $\sqrt{6}\,\mu_B < \mu < \sqrt{8}\,\mu_B$ annehmen. Die eine Grenze $\sqrt{8}\,\mu_B$ entspricht dem Sauerstoff, die andere dem Biradikal, das aber strenggenommen auch erst wieder bei $T = \infty$ erreicht wird! Theoretisch sind hier dieselben Erscheinungen zu erwarten wie bei dem Übergang von Äthylen zum Biradikal. Für solche Stoffe würde gelten

$$E_{^1\Sigma_0} - E_{^3\Sigma_1} = \Delta E_1 \underset{\sim}{>} 0 \; k\,T.$$

Verbindungen dieser Art sind *unbekannt*. Theoretisch könnte man sie ebenfalls in die Klasse der Biradikaloide einreihen. Wird schließlich bei endlichem T der Energieunterschied $\Delta E = E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0}$ sehr groß, und zwar $E_{^1\Sigma_0} \gg E_{^3\Sigma_1}$, dann erhält man aus

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-\frac{\Delta E}{k\,T}} : \frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} \sim \frac{\infty}{1},$$

d. h. es sind praktisch nur noch Molekeln im Triplettzustand vorhanden. Für diesen *Triplettzustand* ergibt sich ein nahezu temperatur*un*abhängiges Moment von $\mu = \sqrt{8}\,\mu_B$ (Sauerstoff).

In dem anderen Grenzfall: endliches T, $\Delta E \gg k\,T$, wobei $E_{^3\Sigma_1} \gg E_{^1\Sigma_0}$ ist, erhält aus der obigen Beziehung $\frac{n_{^3\Sigma}}{n_{^1\Sigma}} \sim \frac{1}{\infty}$, d. h. die Verbindung liegt fast nur im Singulettzustand vor. Stoffe dieser Art haben das Moment Null, sind daher diamagnetisch. Es handelt sich um *normale* organische *Verbindungen* mit *Doppelbindungen*, bei denen auch bei höheren Temperaturen immer noch kein Radikalzustand zu bemerken ist (vgl. S. 386). Zur besseren Übersicht über die etwas verwickelten Verhältnisse diene die nebenstehende Tabelle 15, in der die entsprechenden Werte noch einmal zusammengefaßt sind.

Die Zusammenstellung läßt die Beziehungen zwischen Größe und Temperaturabhängigkeit des paramagnetischen Moments und der Gruppenzugehörigkeit ungesättigter Verbindungen klar erkennen. Für die Gruppen: Äthylen-Biradikal-Sauerstoff kann man hiernach in einfacher Weise eine Zuordnung treffen.

Anders liegt der Fall bei den *Biradikaloiden*. Hier besteht die Möglichkeit, daß das Gesamtmoment bei mittleren Temperaturen noch so klein ist, daß es sich dem experimentellen Nachweis entzieht, wie das auch bei den meisten derartigen Verbindungen mit $\mu \begin{matrix} > 0 \\ < \sqrt{6}\,\mu_B \end{matrix}$ der Fall ist. Das Auftreten von Paramagnetismus gehört in der Reihe dieser Verbindungen zu den seltenen Ausnahmen. Erst wenn $\Delta E \sim 1$ oder 2 kcal beträgt, kann man den Paramagnetismus mittels der üblichen Verfahren feststellen. Der einzige sicher bekannte Fall dieser Art ist das Porphyrindin, dessen ΔE auf Grund der magnetischen Messungen etwa 0,6 kcal beträgt. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch die Diphenylderivate I und II (vgl. S. 352, 355) infolge Störung der ebenen Anordnung bereits recht kleine ΔE-Werte haben, so daß man hierauf ihren Paramagnetismus zurückführen kann. Gerade bei derartigen Zwischentypen sind aber eine ganze Reihe zusätzlicher Untersuchungen notwendig, ehe sich eine genauere Aussage über den Bindungszustand gewinnen läßt (vgl. ferner die späteren Ausführungen S. 408).

Tabelle 15. *Zusammenhänge zwischen der Anregungsenergie ΔE, dem Paramagnetismus und den Typen ungesättigter Verbindungen.*

$\lvert\Delta E\rvert$	μ_B	$\mu_{eff} - T$	Verbindungstypus
$\gg kT$	0	−	$CH_2 = CH_2$
$\sim kT$	$\begin{matrix} > 0 \\ < \sqrt{6} \end{matrix}$	+	Biradikalett[1]
0	$\sqrt{6}$	−	Biradikal
$\sim kT$	$\begin{matrix} < \sqrt{8} \\ > \sqrt{6} \end{matrix}$	+	Biradikalett
$\gg kT$	$\sqrt{8}$	−	O_2

−: μ_{eff} ist temperaturunabhängig,
+: μ_{eff} ist temperaturabhängig,
[1] vgl. S. 375, unten.

Das Biradikalett. Ist der Fall gegeben, daß bei einer ungesättigten Verbindung auf irgendeinem *experimentellen Wege* der *Nachweis* des Vorliegens eines *Triplettzustandes* geführt werden kann, so schlägt der Verfasser zur eindeutigeren Kennzeichnung solcher Stoffe den Namen *„Biradikalett"* an Stelle von Biradikaloid vor. Dieser Gruppenname soll andeuten, daß die *Verbindung* den *Triplettzustand nachweisbar enthält.*

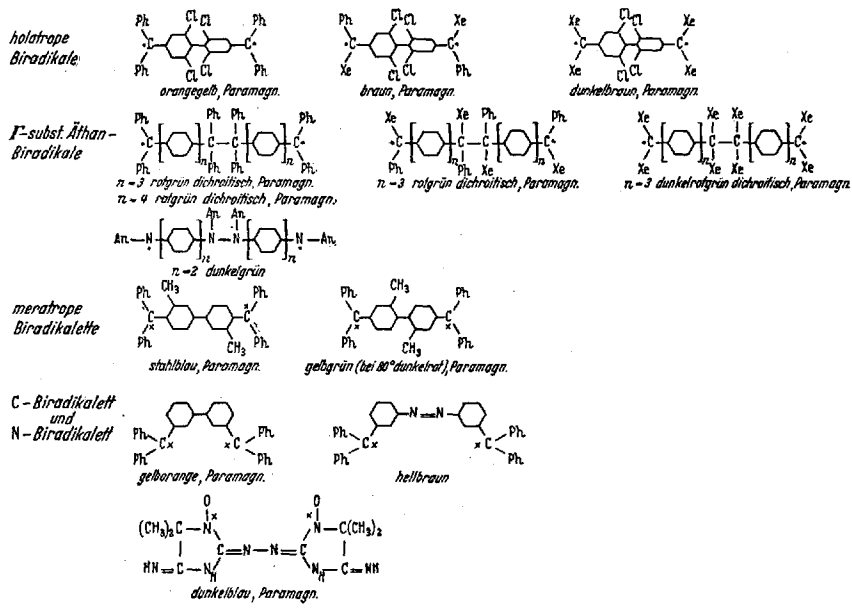
Durch das erste „Wort" Biradikal wird auf das typische chemische Verhalten hingewiesen. Dadurch wird auch die Endung „ett", die ja an den Triplett*zustand*

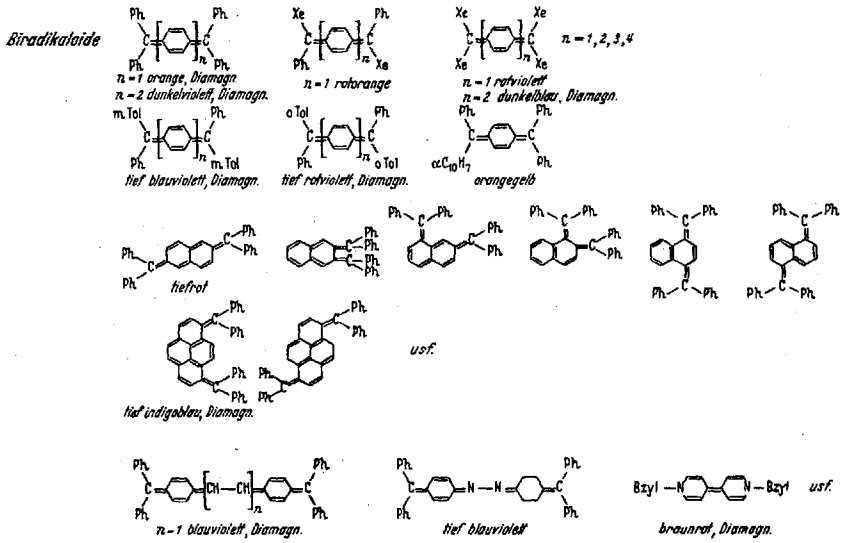
erinnern soll, eindeutig festgelegt. Es kann sich in dieser Wortzusammensetzung nicht um einen Singulettzustand handeln, da dieser nichts mit einem Biradikal zu tun hat, oder besser bei dessen Vorliegen die Verbindung kein Biradikal ist. Während der Kollektivbegriff Biradikaloid zwar treffend einen gewissen Verbindungstypus, aber nur *allgemein* beschreibt, kennzeichnet der Name Biradikalett den wirklich zugrunde liegenden und für das gesamte Verhalten dieser Stoffe so wichtigen charakteristischen Bindungszustand, das *Triplett*. Der Name Biradikaloid konnte früher auch nicht anders gewählt werden, da man seinerzeit über die eigenartigen Bindungszustände in solchen Molekeln noch nichts Näheres wußte. Bei dem heutigen Stand der Erkenntnis erscheint es aber geboten, darüber hinaus auch dieses Wissen mit der neuen Namengebung in Einklang zu bringen. Im Sinne dieser Definition sind daher die „*Metachinone*" von SCHLENK, das entsprechende *Azohomologe* von WITTIG und das *Porphyrindin* als *Biradikalette* anzusehen.

Im Abschnitt IX, 4, S. 397 ff. werden wir sehen, daß unter Anwendung einer empfindlichen und geeigneten optischen Methode in einer großen Reihe von Fällen die Charakterisierung als Biradikalett auch bei solchen Verbindungen gelungen ist, bei denen sowohl aus experimentellen wie auch aus anderen Gründen der magnetische Nachweis des Paramagnetismus versagen mußte, jedenfalls unter Zuhilfenahme der üblichen Meßverfahren.

Es erscheint zweckmäßig, auch den Sauerstoff als Biradikalett zu bezeichnen. Die Molekel besitzt im *Grundzustand* den Triplettterm, die obigen Verbindungen in einem *angeregten* Zustand.

2. Formelübersicht.





VIII. Singulett und Triplett-Terme von Biradikalen und Biradikaletten.

Wie aus den Darlegungen des vorangehenden Kapitels ersichtlich ist, sind die energetischen Unterschiede der verschiedenen Lagen von Singulett- und Triplett-Termen in dem bei der betrachteten Temperatur praktisch besetzten Teil des Spektrums ungesättigter Verbindungen von entscheidender Bedeutung für die Existenz eines Biradikals oder eines Biradikaletts. Die Kenntnis dieses Energieunterschiedes $\Delta E = E_{^3\Sigma_1} - E_{^1\Sigma_0}$, läßt somit einen Schluß zu auf den Bindungszustand in der betrachteten Molekel. Es erscheint daher zweckmäßig, an dieser Stelle eine kurze Betrachtung der hier vorliegenden Verhältnisse vermittels der neueren, auf den Erkenntnissen der theoretischen Physik fußenden Valenztheorie zu geben, wobei sich diese Darstellung im wesentlichen an die von H. HARTMANN (*24*), (*25*) und insbesondere von F. SEEL (*87*), (*88*) durchgeführten Berechnungen anschließt. [Zur Theorie vgl. (*10*).]

1. Zur Berechnung der Terme.

Die stationären Zustände der Molekeln einer ungesättigten Verbindung mit einer konjugierten Folge von Doppelbindungen lassen sich nicht, wie in der klassischen Strukturchemie üblich, durch eine *einzige* Anordnung mit lokalisierten Bindungen wiedergeben. Zur *theoretischen Berechnung* des *Bindungszustandes* solcher Molekeln stehen zwei verschiedene Näherungsverfahren zur Verfügung, von denen das sog. *erste Näherungsverfahren* in der Anwendung zwar recht umständlich und bei größeren Molekeln sehr kompliziert sein kann, deren Ergebnisse sich aber relativ leicht anschaulich deuten lassen.

Das Verfahren zu einer „exakteren" Beschreibung der wirklichen Verhältnisse bedient sich der Mesomerievorstellung, die besagt, daß diese ungesättigten Systeme nicht mehr durch eine einzige Anordnung von Doppelbindungen (z. B. eine Kekulé-Formel des Benzols) wiederzugeben sind, sondern durch die möglichen *Überlagerungs*formen aller denkbaren Anordnungen. Durch diese Überlagerung aller denkbaren „Valenzzustände" mit lokalisierten Bindungen wird eine Annäherung an die wirklichen Verhältnisse erzielt. Die am mesomeren Zustand beteiligten Valenzzustände mit lokalisierten Bindungen werden durch entsprechende Valenzformeln (valence structures) symbolisiert. Als Folge dieses Mesomerieeffektes ist die Bildungsenergie des energetisch tiefsten Überlagerungszustandes (Grundzustand) nun nicht mehr gleich der einer einzelnen Anordnung mit lokalisierten Doppelbindungen (fiktiver Valenzzustand mit maximaler Zahl der Doppelbindungen), sondern um einen gewissen Betrag der „Mesomerieenergie" (auch resonance energy oder Sonderanteil der Energie, oder Konjugationsenergie genannt) größer. Diese charakteristische Mesomerieenergie kann man in Anlehnung an diese Vorstellungen mittels der mathematischen Methoden des ersten Näherungsverfahrens als Vielfaches eines Energieparameters α berechnen ($\alpha \sim 37$—44 kcal/Mol) (*86*).

Besondere Schwierigkeiten macht die Berücksichtigung einer ziemlich großen Zahl von „Valenzformeln". Es sind nämlich nicht nur die schon genannten Valenzformeln zu berücksichtigen, sondern auch solche, die weniger Doppelbindungen als maximal möglich enthalten, sog. „angeregte Valenzzustände", zum Unterschied von den bisher erwähnten „unangeregten". Denn die Valenzelektronen, die den zweiten Strich der Doppelbindung darstellen, die π-Elektronen, können auch eine Bindung zwischen *nicht* direkt benachbarten Atomen bewirken (π-Bindung). Es ist üblich geworden, auch diese relativ meist schwachen Bindungsanteile ebenfalls durch einen Strich zu symbolisieren. Die Verwechslung mit dem normalen Bindungsstrich ist, jedenfalls bei genauerem Hinsehen, nicht gegeben, und man muß sich eben mit dieser Darstellungsweise abfinden. Die Zahl der „Valenzformeln" ist

$$N = \frac{2\,n!}{n!\,(n+1)!},$$

worin $2\,n$ die Zahl der verfügbaren π-Elektronen, $n = z$ also gleich der Zahl der nicht lokalisierten Bindungen (π-Bindungen) ist, falls *keine* freien Valenzen vorhanden sind. In diesem Fall liegen nur Singulettzustände vor. Sind dagegen „freie Valenzen" in einer Molekel gegeben, also auch π-Elektronen mit parallelen Spinmomenten, dann muß man Überlagerungszustände höherer Multiplizität berücksichtigen, in unserem Fall Triplettzustände, bei Monoradikalen die Dublettzustände. Die Zahl N wird dann noch wesentlich größer, und zwar ist $n = z + f$, worin f die Zahl der „freien" Valenzen ist. Es gilt

$$N = \frac{2\,(z+f)!}{(z+f)!\,(z+f+1)!}.$$

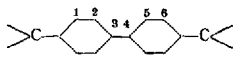
In dem *zweiten Näherungsverfahren* berechnet man die Kopplungsenergie der π-Elektronen und erhält daraus die Mesomerieenergie als Vielfaches eines Parameters β ($\beta = 20$ kcal/Mol) (*26*). Die mathematische Methode, die hier nicht näher geschildert werden kann (*26*), läßt sich etwas einfacher als bei dem ersten Näherungsverfahren handhaben, hat aber den Nachteil einer gewissen Unanschaulichkeit. Beide Methoden zusammen ergänzen sich so in recht guter Weise.

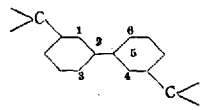
2. Diskussion der Ergebnisse.

Für einige *Biradikale* und *Biradikalette* liegen nun nach beiden Verfahren durchgeführte *Berechnungen* (*87*), (*88*) vor.

Um die Schwierigkeiten des ersten Näherungsverfahrens mit seinen vielen Valenzformeln zu umgehen, werden aus der großen Zahl fiktiver Grenzanordnungen

(Valenzformeln) nur diejenigen in Betracht gezogen, die sich, beispielsweise bei der Berechnung der Diphenyle, in der Lokalisierung der Bindungen an nur *drei* Atompaaren des Diphenylsystems unterscheiden.

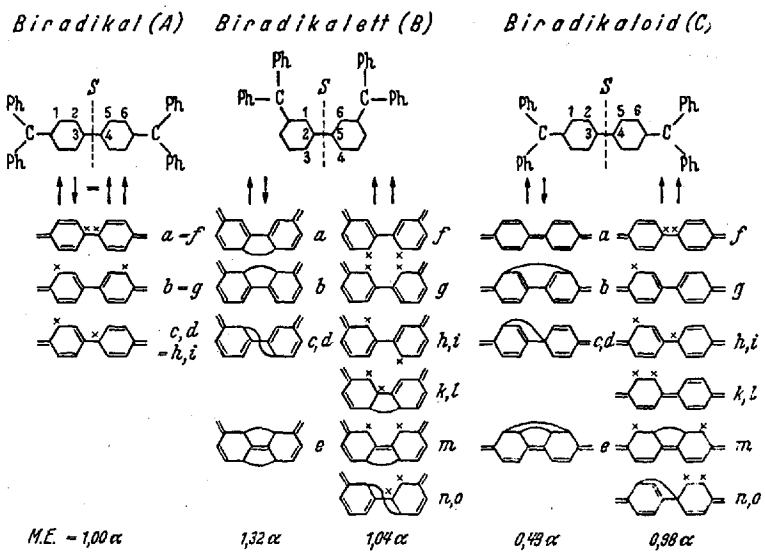




Durch diese Vereinfachung erhält man zwar zu kleine Absolutwerte der Mesomerieenergie, aber darauf kommt es zunächst nicht an. Es sollen vielmehr die *Unterschiede* der verschiedenen Mesomerieenergien bei den verschiedenen Verbindungen ermittelt werden, und diese kommen tatsächlich auch so schon richtig zum Ausdruck. Damit stehen die Ergebnisse einer nach dem zweiten Näherungsverfahren durchgeführten vollständigeren Berechnung (das gesamte mesomere Bindungssystem ist berücksichtigt) im Einklang. Da ferner eine völlig ebene Lagerung aller Atome in diesen substituierten Diphenylderivaten wegen einer gewissen räumlichen Behinderung der ortho-ständigen Wasserstoffatome der Benzolkerne der äußeren Diarylmethylgruppen nicht möglich ist, dadurch aber die Gesamtmesomerieenergie verkleinert wird, sind die Berechnungen sowohl für ebene Lagerung des Gesamtsystems wie auch für die Senkrechtstellung der endständigen Phenylkerne durchgeführt worden. Das Mittel aus diesen beiden Grenzwerten dürfte ein etwas zutreffenderes Bild als die Werte für völlig ebene Lagerung geben, wenngleich die sicher meist nicht große Verdrehung in ihrem Wert nicht angegeben werden kann, und so zunächst nur die Näherung durch das arithmetische Mittel beider Grenzstellungen übrigbleibt.

Die Rechenergebnisse sind in der Tabelle 16 wiedergegeben.

Tabelle 16. *Valenzformeln und Mesomerieenergie bei einem atropen Biradikal, dem* SCHLENK*schen Biradikalett und dem Biradikaloid von* TSCHITSCHIBABIN.



Vollständige Formeln für Anordnungen, die sich in der Lokalisierung der Bindungen der Atome 1—6 unterscheiden. Die fehlenden Formeln *d*, *i*, *l*, *o* sind durch Spiegelung an der Symmetrieebene *S* entstanden zu denken. Die

wiedergegebenen Mesomerieenergien (Teilenergien) beziehen sich auf die tiefsten Singulett- und Triplettzustände. [Aus SEEL (88).]

Unter der Voraussetzung der *koplanaren* Lagerung der ungesättigten Systeme A und B berechnet sich die Mesomerieenergie für den TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoff A: $14{,}17\,\beta$, für den SCHLENKschen Kohlenwasserstoff B: $13{,}98\,\beta$ und für das atrope Diphenylsystem C zu dem doppelten Wert des entsprechenden „hälftigen" Monoradikals.

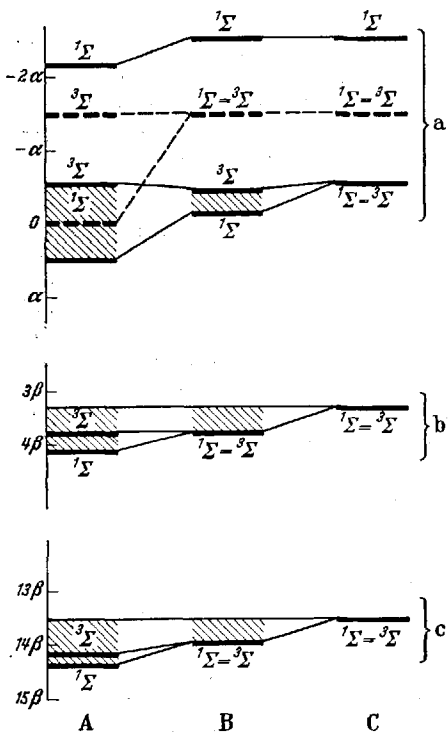


Abb. 14. Termschema: A = TSCHITSCHIBABINscher Kohlenwasserstoff, B = SCHLENKscher Kohlenwasserstoff, C = atropes Diphenylderivat, a) unter Berücksichtigung der Valenzformeln der Tabelle 16, b) des mesomeren Gesamtsystems, koplanare Lagerung der endständigen Phenylgruppen, c) wie b), unter Ausschluß der koplanaren Lagerung der endständigen Phenylgruppen, — — — — Termlage des Valenzzustandes mit maximaler Doppelbindungszahl, ▨ Kopplungsenergie der Tritylsysteme. [Nach F. SEEL (88).]

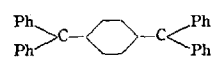
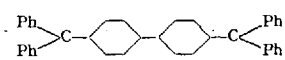
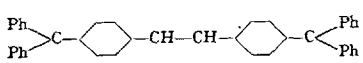
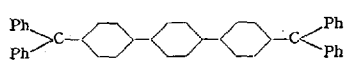
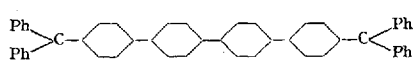
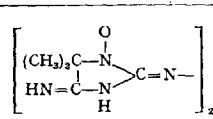
Die Betrachtung der Termlagen dieser Verbindungstypen, wie sie in der Abb. 14 wiedergegeben ist, läßt folgendes erkennen:

Singulett-Terme. Am tiefsten liegt der Singulett-Term von A. An diesem Zustand ist nämlich eine „Valenzformel" mit der größten bei allen drei Systemen denkbaren Zahl von Doppelbindungen (chinoide Formel im klassischen Sinne) beteiligt. Eine Senkung des Grundterms ist auch bei dem Biradikalett B vorhanden, indem durch Valenzzustände mit geringerer Zahl von Doppelbindungen doch ein merklicher innerer Valenzausgleich zustande kommt. (Metachinon!) Bei C sind keine Formeln mit π-Bindungen zwischen den Phenylringen möglich, es liegt keine Mesomeriewechselwirkung der beiden π-Elektronen-Teilsysteme aufeinander vor. Der erste höhere Singulettüberlagerungszustand ist nach dem ersten Näherungsverfahren bei allen drei Systemen verschieden, bei C ebenso groß wie bei Monoradikalen. Daraus läßt sich auch der dem erfahrenen Beobachter gut bekannte Farbunterschied zwischen Biradikalen und Biradikaloiden erklären und verstehen. Die Farbe der Biradikale ist stets matter und weniger leuchtend als die entsprechender Biradikaloide (kleineres Übergangsmoment).

Triplett-Terme. Auch bei den Triplett-Termen ergibt sich durch die Mesomerie eine beträchtliche Senkung der Energie des tiefsten Überlagerungszustandes gegenüber einem einzelnen Triplett-Term. Bei den Biradikalen sind die beiden Molekelhälften wieder mesomer voneinander unabhängig. Da Art und Zahl der Valenzformeln mit dem Gesamtspin eins ($\uparrow\uparrow$) gleich sind denen mit dem Gesamtspin Null ($\uparrow\downarrow$), ist das Singulett-Triplett-System hier entartet ($\Delta E = 0$). Der tiefste Triplett-Term — und das ist besonders charakteristisch — liegt nur bei Verbindungen des Typus A deutlich höher als der Singulett-Grundterm (Beteiligung der chinoiden Struktur im klassischen Sinne). Aber auch diese Anregungsenergie ist verhältnismäßig gering, wie eine vollständige Durchrechnung zeigt, und nimmt bei den in Tabelle 17 zusammengestellten Kohlenwasserstoffen immer mehr ab bis zu etwa 0,5 kcal, reicht also damit schon in den mit üblichen Meßmethoden nachweisbaren Bereich des Paramagnetismus.

Bei den Ter- und Quater-phenylverbindungen tritt daher im Sinne des ersten Näherungsverfahrens die Singulett-Valenzformel mit maximaler Zahl von Doppelbindungen (chinoide Struktur im klassischen Sinne) gegenüber der wachsenden Zahl anderer, angeregter Strukturen

Tabelle 17. *Anregungsenergien (ΔE) von Triplettzuständen.*

Nr.	Substanz	ΔE (in β oder kcal)
1		0,41 $\beta \sim$ 8 kcal
2		0,21 $\beta \sim$ 4 kcal
3		0,19 $\beta \sim$ 4 kcal
4		0,11 $\beta \sim$ 2 kcal
5		0,05 $\beta \sim$ 1 kcal
6		0,03 $\beta \sim$ 0,6 kcal

Mittel aus Werten für ebene und senkrechte Lagerung der endständigen Phenylgruppen, Nr. 1—5 berechnet, Nr. 6 gefunden.

immer mehr an der Beteiligung am Grundzustand der Verbindung zurück.

Nach dem zweiten Näherungsverfahren erhält man auch bei Biradikalettsystemen eine Entartung des niedrigsten Singulett- und Triplettzustandes ($\Delta E = 0$). Diese Abweichung in den Ergebnissen der beiden Verfahren kann in dem Näherungscharakter der angewandten mathematischen Methoden begründet sein. Besonders bei der Berechnung der Triplett-Terme zeigt sich hier vielfach keine gute Übereinstimmung beider Methoden.

Im Sinne des anschaulicheren ersten Näherungsverfahrens ist es verständlich, daß bei den Biradikaletten $\Delta E + O$ ist. Denn die „dreiwertigen" Kohlenstoffatome können in gewissen Valenzformeln auch der *gleichen* Molekelhälfte angehören, so daß ein gewisser, wenn auch schwacher Valenzausgleich zwischen den Tritylen doch zustande kommt. Dem entspricht auch eine Senkung des tiefsten Triplettterms der Systeme *A* und *B* (Abb. 14) gegenüber *C*. Die Stoffe des Typus *B* sind daher im System der Triplettzustände nicht genau so zusammengesetzt wie die wirklichen verdoppelten Monoradikale, also die Biradikale selbst. Auch aus diesen Gründen kann man Stoffe wie *B* trotz des sehr kleinen ΔE-Wertes nicht zu den Biradikalen, sondern — natürlich immer die monomere Form vorausgesetzt — zu den Biradikaloiden bzw. Biradikaletten zählen.

3. Die p-Wasserstoffmessungen.

Einen Hinweis auf die relativ leichte Anregbarkeit des niedrigsten Triplettzustandes in den typischen Vertretern der Biradikaloide kann man in dem Ergebnis der *o,p-Wasserstoffumwandlung* erblicken. Nach Versuchen von G. M. SCHWAB und E. AGALLIDIS (*79*) an *Monoradikalen* wie Triphenylmethyl, Phenyldibiphenylmethyl und Trixenylmethyl erhält man mit der Erfahrung gut übereinstimmende Werte, wenn man in der Gleichung

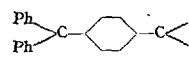
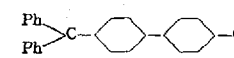
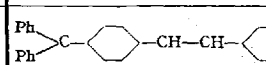
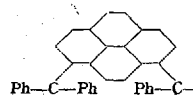
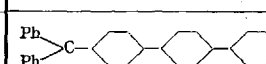
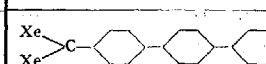
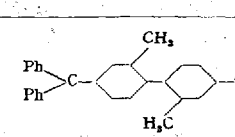
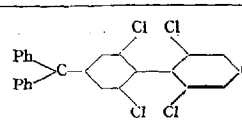
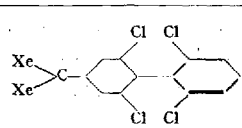
$$k = (a \cdot c_R + b) \frac{\beta v_{fl}}{v_B - (1 - \beta) v_{fl}}$$

eine Umwandlungskonstante $a = 2{,}6 \cdot 10^{-2}$ einsetzt. Der Wert a ist bei verschiedenen Radikalen unabhängig von der speziellen Konstitution. Von SCHWAB (*80*), (*81*), (*82*), (*83*) wird nun bei der Untersuchung der Biradikale ad hoc der doppelte Wert von a eingesetzt, eine zunächst recht plausibel erscheinende Annahme. Mit diesem Wert $2a$ erhält man, wie auch Untersuchungen des Verfassers bestätigen, wesentlich höhere Werte für die „Biradikalkonzentrationen" als nach der magnetischen Methode. Dies geht so weit, daß man in *vorläufigen* Versuchen (*1*) an Biradikalen des atropen Diphenylsystems, die schon weitgehend in monomerer Form vorliegen, unter Verwendung dieser Konstanten $2a$ Radikalprozente von weit über 100% erhält (vgl. Tabelle 18).

Vor einer weitergehenden Schlußfolgerung aus diesen o,p-Wasserstoffversuchen müßten daher erst einmal die gut bekannten Biradikale untersucht werden. Rechnet

man versuchsweise mit einer 4mal so großen Konstante, also mit 4a, so bekommt man Werte, die mit denen der magnetischen Methode übereinstimmen (s. Tabelle 18 vorletzte Spalte). Die Verwendung der 4mal so großen Stoßkonstante a bei Biradikalen und Biradikaloiden könnte z. B. bedeuten, daß die Trefferwahrscheinlichkeit beim Zusammenstoß der p-H_2-Molekeln mit den organischen Molekeln gegenüber einfachen Monoradikalen erhöht ist, die Konstante also mit einem „Gewichtsfaktor" zu belegen wäre.

Tabelle 18. *Vergleich der paramagnetischen Suszeptibilität nach der magnetischen und der p-Wasserstoffmethode. Die maximalen Prozentwerte beziehen sich auf offene Monomere.*

Nr.	Substanz	Paramagnetische Suszeptibilität benzolischer Lösungen in maximalen %-Werten für Monomere		p-H_2-Wert mit 2 · 2 a	ΔE, kcal
		Magnetische Messungen	p-H_2-Messungen		
1		0	0	0	~ 8
2		0 ± 2	10 ± 2	0 ± 2	~ 4
3		4 ± 2	23 ± 2	6 ± 2	~ 4
4		4 ± 2	20 ± 2	5 ± 2	?
5		13 ± 2	39 ± 4	10 ± 2	~ 2
6		52 ± 5	225 ± 25[1]	56 ± 6	0
7		10 ± 3	34 ± 3	9 ± 2	~ 0
8		17 ± 2	55 ± 5	14 ± 2	0
9		76 ± 7	370 ± 80[1]	90 ± 10	0

Nr. 1 und 3 nach Messungen von G. M. SCHWAB, die übrigen sind Untersuchungen von A. BÄHR entnommen (*1*). [1] Unsichere Werte.

Wie dem auch sei, die leichtere Anregbarkeit des Triplettzustandes bei verschiedenen Biradikaloiden kommt in dem deutlich sichtbaren Gang der gefundenen p-H_2-Umwandlungswerte gut zum Ausdruck, in Übereinstimmung mit den im voranstehenden gemachten theoretischen Erläuterungen. Zur Klärung dieser Verhältnisse wären weitere Versuche zur o,p-H_2-Umwandlung durch Biradikale und Biradikaloide sehr erwünscht.

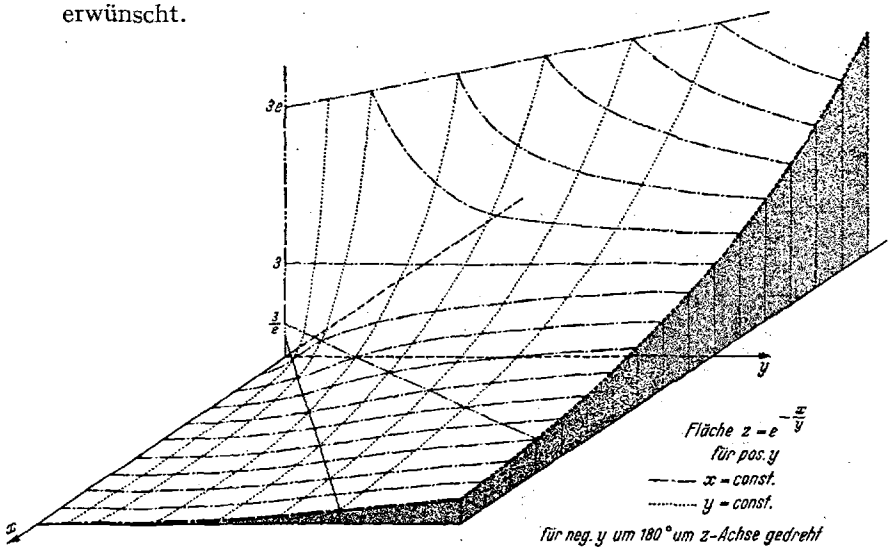


Abb. 15. Darstellung der Fläche $z = e^{-x/y}$

Auch feste freie Radikale beschleunigen die o,p-Wasserstoffumwandlung, wobei zum Teil besondere Beschleunigungseffekte auftreten (*96*). Paramagnetische Porphyrinverbindungen, einschließlich des Hämoglobins, können ebenfalls als geeignete Stoßpartner die o,p-Umwandlung katalysieren (*14*).

4. Die charakteristische Triplettanregungstemperatur Θ bzw. T/Θ.

Ebenso wie für Biradikale der Wert $\Delta E = 0$ in der Gleichung

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-\frac{\Delta E}{kT}}$$

von besonderer Bedeutung ist, gelangt man auch für Biradikaloide bzw. Biradikalette dann zu einer charakteristischen Beziehung, wenn man das ΔE der obigen Gleichung dem kT gleichsetzt, also $\Delta E = kT = k\Theta$. Dann wird

$$\frac{n_{^3\Sigma_1}}{n_{^1\Sigma_0}} = \frac{3}{1} \cdot e^{-1} = \frac{3}{e} = \frac{3}{2{,}718\ldots} \approx 1.$$

Bei dieser Temperatur Θ ist demnach die Zahl der Molekeln im Singulettzustand ungefähr gleich der im Triplettzustand. Dem würde nebenbei bemerkt ein Magnetonenwert von $\approx 2\mu_B$ entsprechen. Für

$$-\Delta E = kT \quad \text{wird} \quad \frac{n_{1\Sigma}}{n_{1\Sigma}} = 3e \approx 9.$$

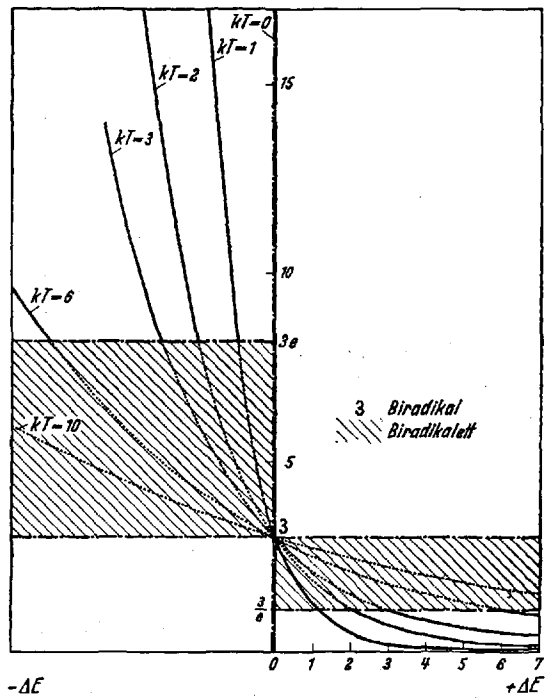


Abb. 16. Schnitt durch die x—z-Ebene (Schnittpunkt bei 3 = Biradikal).

Die Verhältnisse werden übersichtlicher, wenn man die voranstehenden graphischen Darstellungen der Grundgleichung betrachtet.

Die graphische Darstellung der Funktion

$$z = e^{-x/y}$$

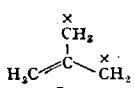
zeigt, daß jede Kurve, die einen bestimmten kT-Wert darstellt, durch den Punkt 3 der z-Achse geht (vgl. Abb. 16) bzw. in der Raumdarstellung (Abb. 15) durch die Gerade $z = 3$ in der y—z-Ebene (feingepunktete Kurven). Die ΔE-Kurven nähern sich dieser Geraden $z = 3$ (in der Ebene y—z) von unten her, wie andererseits die Kurven für $-\Delta E$-Werte sich von oben her dieser Geraden $z = 3$ nähern. Der Wert $z = 3$ wird *nur* erreicht für $\Delta E = 0$, d. i. die Bedingung für die Existenz der Biradikale.

Tabelle 19. *Charakteristische Triplettanregungstemperatur Θ bzw. Θ/T für ($T = 293°$) ungesättigter Verbindungen.*

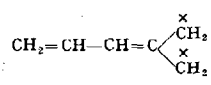
Verbindung	ΔE, kcal	T/Θ
Äthylen	72	0,008
Butadien	~ 50	0,011
Acene	~ 20—10	0,03—0,06
THIELES Kohlenwasserstoff	~ 8	0,07
TSCHITSCHIBABINS Kohlenwasserstoff	~ 4	0,15
WITTIGS Kohlenwasserstoff	~ 4	0,15
p,p'-Terpheno-chinodimethid	~ 2	0,29
p,p'-Quaterpheno-chinodimethid	~ 1	0,58
Porphyrindin	~ 0,6	0,97
SCHLENKS Kohlenwasserstoff	(0,1)	(5,8)
Meratrope Kohlenwasserstoffe	(0,1)	(5,8)
Γ-Paraffinderivate	→ 0	≫ 1
Holatrope Diphenyle	→ 0	≫ 1

Für $\Delta E = kT = k\Theta$ wird $z_1 = 3/e$, für $-\Delta E = kT = k\Theta$: $z_2 = 3\,e$. Das Gebiet der Biradikalette wird demnach begrenzt von den Ebenen $z = 3$ einerseits und $z_1 = 3/e$ (für $\Delta E > 0$) bzw. $z_2 = 3\,e$ (für $\Delta E < 0$) andererseits, während die Biradikale nur einen ganz speziellen, näherungsweise erreichbaren, linearen Grenzfall darstellen, nämlich für $\Delta E = 0$. Mittels dieser *T/Θ-Werte* läßt sich überblicken (vgl. die obenstehende Tabelle), ob die betrachtete Verbindung bei $T = 293$ zu den Biradikaletten gehört oder nicht, ferner wie die energetischen Verhältnisse zur Anregung des Triplettzustandes bei den verschiedenen ungesättigten Verbindungen liegen, und welche Energien, sei es als Wärme, Licht usw. man aufwenden muß, um den Triplettzustand bei der betreffenden Verbindung zu erreichen. Liegen die T/Θ-Werte mit $T = 293\ K$ etwa um 1, dann müssen alle für die Biradikaloide bzw. Biradikalette typischen Erscheinungen, also auch Paramagnetismus auftreten. Zu manchen Vergleichen dürfte sich diese von H. HARTMANN und dem Verfasser vorgeschlagene Charakterisierung der ungesättigten Verbindungen wohl eignen.

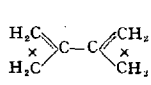
Betrachtet man in der obigen graphischen Darstellung (Abb. 16) die Beziehungen zwischen der Konstitution einer ungesättigten Verbindung und ihrem Θ-Wert bzw. T/Θ-Wert, so fällt auf, daß organische Stoffe mit negativem Θ (das negativ folgt aus der Definition für ΔE und wäre an sich leicht durch Abänderung der Definition zu ändern), also Verbindungen, in denen der *Triplettzustand* der *tieferliegende* (Grundzustand) ist, unbekannt sind. Theoretische Berechnungen von F. SEEL (*87a*) und H. HARTMANN (*25*) zeigen, daß solche Verbindungen z. B. die folgenden wären:



I



II



III

Ihre Nichtexistenz als Verbindungen mit im klassischen Sinne abgesättigten Valenzen ergibt sich daraus, daß die Bildungsenergie ihres Grundzustandes (hier also des Triplettzustandes) um etwa 30 kcal/Mol kleiner ist als bei den bekannten stabilen organischen Verbindungen. Das $|\Delta E|$ beträgt bei I etwa 20—25 kcal und ist auch für II noch wesentlich größer als Null. Beide Stoffe wären daher im Falle ihrer Existenz als Biradikalette anzusprechen. Bei III ist $|\Delta E|$ zwar noch kleiner, aber immer noch nicht Null. Auch die Verbindung III gehörte daher zu den Biradikaletten — alles ebene Lagerung vorausgesetzt. Nach den vorhandenen Erfahrungen der organischen Chemie wäre es aber denkbar, durch Einführung mesomeriefähiger Substituenten ihre Bildungsenergie zu erhöhen, sodaß man zu stabilen Stoffen gelangt, deren Grundzustand der Triplettzustand ist. (Das Wort stabil bezieht sich dabei auf die unter Normalbedingungen vorliegenden Verhältnisse.) Die oben genannten Verbindungen I und II sind gleichsam Modellsubstanzen der meta-chinoiden Bindungsanordnung. In gewisser Weise gehört zu diesen substituierten Derivaten auch der SCHLENKsche Kohlenwasserstoff, nur daß bei ihm der Triplettzustand gegenüber der unsubstituierten Verbindung schon wesentlich höher und damit annähernd gleich dem Singulettzustand liegt.

IX. Der Triplettzustand als „Radikalzustand" ungesättigter Verbindungen.

Auf Grund des vorhandenen theoretischen und experimentellen Materials über die Homolyse einer C=C-Doppelbindung ist es nun möglich, die Frage des „Radikalzustandes" der ungesättigten Verbindungen allgemeiner zu betrachten.

Die ganz überwiegende Mehrzahl aller ungesättigten organischen Verbindungen besitzt im Grundzustand einen Singulett-Term. Führt man einer solchen Verbindung in irgendeiner Weise genügend Energie zu, so kann ein Zustand höherer Multiplizität, hier ein Triplett-Term angeregt werden.

Formelmäßig läßt sich diese Anregung so darstellen, daß die π-Elektronen der Doppelbindung zwar „vereinsamt", aber in ihrer Spinrichtung noch miteinander parallel ausgerichtet sind:

$$\underset{\text{a}}{\uparrow\downarrow\ >C=C<} \rightleftharpoons \underset{\text{b}}{>\overset{\times}{C}-\overset{\times}{C}<\ \uparrow\uparrow}$$

Es erscheinen so in der Formulierung gleichsam zwei „freie" Valenzen an den die Doppelbindung tragenden Atomen. Aber es ist nicht sinnvoll, hier schon von einem Biradikal oder einem Biradikalzustand zu sprechen. Abgesehen davon, daß die Bearbeitung der Biradikale ein für diese

Stoffklasse charakteristisches chemisches und physikalisches Verhalten in engster Anlehnung an das der Monoradikale gezeigt hat, sind auch bei b infolge des Mesomeriephänomens (ebene Lagerung!, besonders deutlich werden diese Verhältnisse bei Stoffen mit konjujugierten Doppelbindungen, vgl. auch den SCHLENKschen Kohlenwasserstoff, S. 382) die dreibindigen C-Atome nicht lokalisierbar. Damit würden sich weitere Schwierigkeiten hinsichtlich der Definition einer Verbindung im Sinne des ursprünglichen chemischen Radikalbegriffs ergeben.

Die Anordnung b bzw. das Gleichgewicht a $\rightleftharpoons$ b ist vielmehr charakteristisch für die Biradikaloide bzw. das Biradikalett.

Gelingt es schließlich, die Senkrechtstellung der beiden Molekelhälften gegeneinander zu erreichen, dann erst ist der Zustand der denkbar geringsten gegenseitigen Beeinflussung der „vereinzelten" π-Elektronen erreicht (in größtmöglicher Annäherung; $\Delta E = 0$).

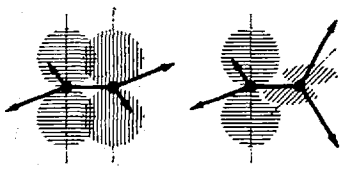
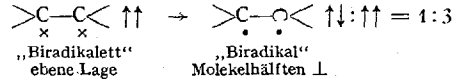


Abb. 17. Zur Dichteverteilung von π-Elektronen einer C=C-Doppelbindung für ebene und senkrecht aufeinander stehende Molekelhälften (Schnitt) (*88*).



Zur Veranschaulichung der bei einer Querstellung der Molekelhälften herrschenden Verhältnisse diene die nebenstehende Abb. 17 (*88*).

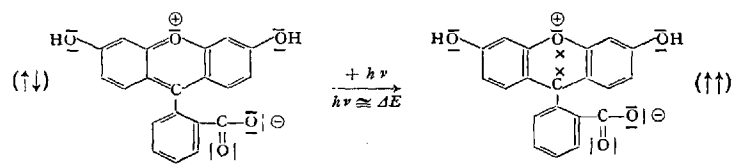
Für die Bildung einer stabilen Doppelbindung zwischen zwei Atomen fordert die neue Valenztheorie ebenso wie die klassische eine *ebene* Lagerung aller Bindungspartner. In dieser Lage sind die Vorzugsrichtungen der Dichteverteilung der π-Elektronen parallel zueinander ausgerichtet (maximale Wechselwirkung bei der Bindung), wogegen es bei einer Senkrechtstellung zu keinem Bindungsbeitrag der π-Elektronen kommt. Es ist so die Ausbildung einer stabilen Doppelbindung unmöglich (vgl. auch das Dazwischenschalten koordinativ gesättigter Atome).

Diesen sterischen Bedingungen werden aber im Hinblick auf ihre Konstitution nur wenige Stoffe gerecht; Biradikale zählen daher zu den Ausnahmen. Aber auch dann, wenn der Übergang Singulett-Triplett schon erleichtert ist, erfordert der weitere Übergang in den Biradikalzustand (Herausdrehen aus der Ebene) noch eine zusätzliche Energie (*88*).

Der „Radikalzustand" normaler ungesättigter Verbindungen ($\Delta E \sim k\,T$) entsteht somit durch den Übergang eines diamagnetischen Grundzustandes ($^1\Sigma_0$) in einen paramagnetischen angeregten Zustand, den Triplettzustand ($^3\Sigma_1$). Es dürfte sich daher empfehlen, hier nicht von einem Radikalzustand, sondern genauer von einem „Radikalett"-zustand ungesättigter Verbindungen zu sprechen. Dieser Biradikalettzustand ungesättigter Stoffe ist im übrigen nicht nur auf die C=C-Doppelbindung beschränkt. Er läßt sich z. B. thermisch oder optisch anregen und auch im letzteren Fall durch seinen Paramagnetismus direkt experimentell nachweisen.

1. Magnetischer Nachweis des Triplettzustandes.

Bereits 1935 beschrieb der Verfasser (*43*) Versuche, durch Bestrahlen einer Rubrenlösung einen während der Lichteinwirkung möglicherweise auftretenden Paramagnetismus nachzuweisen. Der Versuch ergab keinen merklichen Magnetismus, da, wie wir heute wissen, die angewandte Feldstärke (3500 Ørstedt) des zur Verfügung stehenden Magneten und die geringe Stärke der Lichtquelle nicht ausreichend waren. In einer wesentlich leistungsfähigeren Anordnung (Feldstärke 20000 Ørstedt) gelang es dagegen 10 Jahre später G. N. LEWIS und Mitarbeitern, diesen Nachweis zu erbringen (*34*). In einer geeigneten Versuchsanordnung belichten die amerikanischen Forscher *Fluorescein*, das sich in einer starren (rigid) Lösung in Borsäure befindet (Borglas). Die Versuchsprobe wird zwischen die Polschuhe des Magneten an einem dünnen Faden aufgehängt und ihre Lageänderung bei Belichtung mit UV-Licht beobachtet. Ohne Magnetfeld tritt keine Lageänderung ein. Sobald man aber den Magneten erregt, ist sofort eine deutliche Lageänderung zu beobachten. Diese Lageänderung und ihre Richtung entsprechen dem Vorhandensein eines *paramagnetischen* Stoffes. Dabei ist besonders bemerkenswert, daß bei Belichtung in Gegenwart von Sauerstoff zuerst ein paramagnetischer Stoß entsteht, der sofort von einem größeren, aber in der entgegengesetzten Richtung erfolgenden abgelöst wird. Die Änderung der Lage der Versuchsprobe ist von der Intensität des eingestrahlten Lichtes abhängig. Unter der Voraussetzung, daß das magnetische Moment des Triplett-Fluoresceins dasselbe ist wie das des Sauerstoffs $(\sqrt{8}\,\mu_B)$, entsprechen die gefundenen Zahlenwerte dem, was man bei der betreffenden Versuchsanordnung erwarten kann. Formelmäßig kann man diese Befunde so wiedergeben:



„normale" ungesättigte Verbindung
orthochinoide Formulierung
inneres Oxoniumsalz (Zwitterion)

Triplettzustand,
orthoständige $O^{\times}$- und $C^{\times}$-Atome
Zwitterion, Biradikalett

Reicht die Energie des eingestrahlten Lichtes oder die sonstwie in die Molekel hineingebrachte Energie aus, um die Energiestufe ΔE zu überwinden, und geschieht diese Überwindung so, daß dieser höhere Energiezustand für einige Zeit erhalten bleibt, dann können unter günstigen Umständen die Mehrzahl aller vorhandenen Molekeln der ungesättigten Substanz im Triplettzustand vorliegen. Der Unterschied zwischen dem Fluorescein-Biradikalett und dem Sauerstoff-Biradikalett

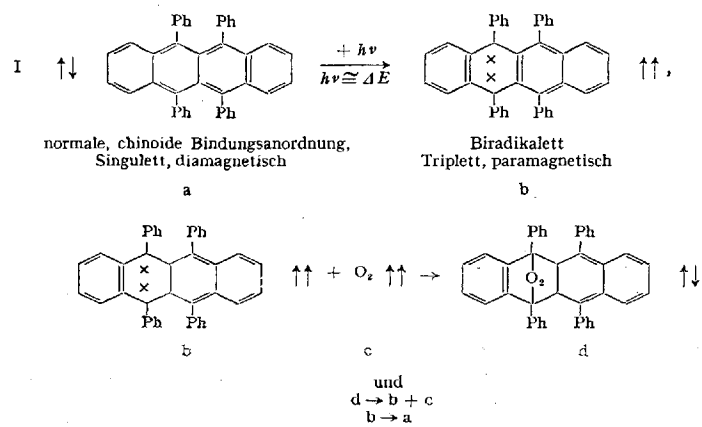
wäre dann nur, wie schon früher erwähnt, der, daß der Sauerstoff unter *normalen* Bedingungen als Triplett im Grundzustand vorliegt, während das Fluorescein durch *Energiezufuhr* erst in den Triplettzustand gehoben werden muß.

2. Biradikalette als Träger photochemischer Reaktionen.

Die Bedeutung dieser Biradikalette und das sich abzeichnende neue Arbeitsgebiet der organischen Chemie soll im folgenden an einigen Beispielen, insbesondere den verschiedenen *Sauerstoffreaktionen* und den *Polymerisationen* gezeigt werden.

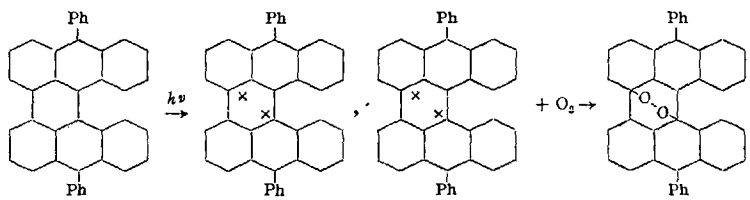
a) Die Peroxydbildung. Für ein Biradikalett ist das Verhalten gegen Sauerstoff sehr charakteristisch. Gerade dieses typische Verhalten im Verein mit anderen Radikaleigenschaften (reversible Polymerisation, Farbe usw.) war es ja, was schon lange zu der Vermutung des Vorliegens freier Radikale in solchen Verbindungen geführt hat. Aus der Fülle des vorhandenen Stoffes seien nur einige wenige Beispiele hier wiedergegeben.

In der Gruppe der Acene verdient das *Rubren* (I) besondere Erwähnung, auf das an dieser Stelle noch einmal hingewiesen sei. Dieser leuchtend ziegelrote Kohlenwasserstoff gibt am *Licht* sehr leicht ein wieder spaltbares farbloses *Peroxyd*. Durch Einstrahlen von Licht wird demnach der Triplettzustand erreicht (kein Biradikal!), der nun seinerseits leicht mit dem ebenfalls als Triplett vorliegenden Sauerstoff unter Peroxydbildung reagiert. Anwendung von thermischer Energie spaltet das Peroxyd wieder in seine Ausgangskomponenten.



Die Sauerstoffreaktion von I ist nicht auf diese höher kondensierten Aromaten beschränkt. Sie findet sich auch bei dem Anfangsglied der

homologen Reihe, dem *Anthracen* selbst. [Belichten von Anthracen in Gegenwart von Sauerstoff führt zum Anthracenperoxyd (*11*).] Gewisse Verbindungen dieser Art, wie z. B. das *meso-Diphenyl-helianthren*, nehmen bei Belichtung den Sauerstoff sogar sehr rasch auf. Die violette Lösung dieses Kohlenwasserstoffs (in CS_2) wird bei Luftzutritt und Belichtung (Sonnenlicht) *augenblicklich*! entfärbt (*12*).



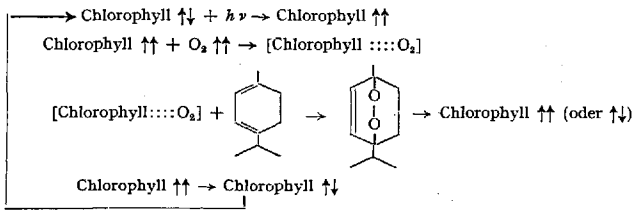
b) Photochemisch sensibilisierte Sauerstoffreaktionen. Nach dem Gesagten ist es eigentlich selbstverständlich, daß das *Biradikalett* als *Träger photochemischer Reaktionen* eine besondere Rolle spielen kann. Die Sauerstoffreaktion eines Biradikaletts ist nämlich nicht nur auf die Ausbildung stabiler Peroxyde als Endprodukte der Reaktion beschränkt. Eine noch größere Bedeutung kommt offenbar denjenigen Reaktionen zu, bei denen das Biradikalett nur eine lose und recht schwache Bindung („π-Bindung") mit O_2 ($\uparrow\uparrow$) eingeht, wobei dieser intermediär entstehende „π-Komplex" unter Übertragung des Sauerstoffs (und von Energie) auf einen fremden Acceptor wieder gelöst wird, und das Biradikalett unter eben jener Energieabgabe zum Schluß im Singulettzustand als normale ungesättigte Verbindung erscheint. (Zur Raumlage beim Reaktionsereignis vgl. S. 402.) Es ist dies offenbar das Prinzip vieler *photochemisch sensibilisierter Reaktionen*, wobei fluorescierende Farbstoffe wie Fluorescein, Eosin, Chlorophyll u. a. m. bei Lichteinstrahlung ihre besondere Wirksamkeit entfalten.

$$\longrightarrow S^{1\Sigma} + h\nu \rightarrow S^{3\Sigma}$$
$$S^{3\Sigma} + O_2^{3\Sigma} \rightarrow S{::::}O_2$$
$$S{::::}O_2 + A \rightarrow AO_2 + S^{1\Sigma} \text{ bzw. } S^{1\Sigma}$$
$$S^{3\Sigma} \rightarrow S^{1\Sigma}$$

S = Sensibilisator, A = Acceptor, S::::O_2 = π-Komplex. Hier könnte ein wirklicher π-Komplex vorliegen zum Unterschied von den Proton- oder Kationbrücken-Komplexen, die man jetzt zwar so nennt, die aber ihre Bezeichnung eigentlich nicht verdienen.

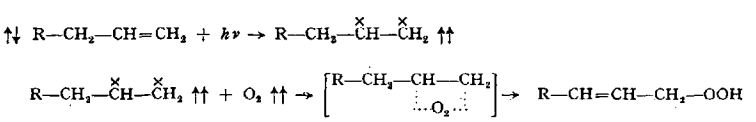
Dafür sprechen vor allem neuere Versuche von G. O. SCHENK (*71*), (*72*), nach denen die durch Chlorophyll sensibilisierte Reaktion des Sauerstoffs mit α-Terpinen zum *Ascaridol* führt. Zur Vermeidung der Bildung polymerer Peroxyde muß dabei das α-Terpinen in ausreichend

hoher Verdünnung vorliegen, sozusagen unter „natürlichen" Bedingungen.

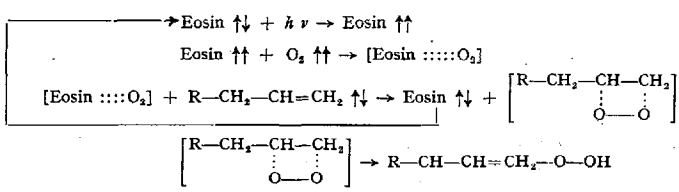


In Übereinstimmung mit diesem Reaktionsschema ist die Quantenausbeute ~ 1.

Olefine mit *isolierten Doppelbindungen* nehmen unter ähnlichen Bedingungen den Sauerstoff an ihrer Doppelbindung auf. Anschließend erfolgt eine Verschiebung des H-Atoms aus der Allylstellung, wobei unter Wanderung der Doppelbindung als Endprodukt ein ungesättigtes Hydroperoxyd erscheint.



Diese direkt, aber wegen der ungünstigen Triplett-Termlage einfacher Olefine nur schwer zu erreichende Reaktion wird durch den Einsatz eines Photosensibilisators praktisch durchführbar. Auch hier besteht der Sinn des Photosensibilisators offenbar darin, durch „π-Komplexbildung" mit Sauerstoff den letzteren auf die sonst nur schwer in den Triplettzustand überzuführende olefinische Doppelbindung zu übertragen. (Vielleicht unter Zwischenbildung eines ternären Komplexes: Photosensibilisator ↑↑, O_2 ↑↑ und „En"-Verbindung ↑↓, wobei unter Energieübertragung: Photosensibilisator ↑↓ und „En" ↑↑ die Reaktion mit O_2 ↑↑ stattfindet.)



Für dieses Reaktionsschema spricht ferner, daß sonst so leicht autoxydable Verbindungen wie Tetralin, Dekalin usw. auch in Gegenwart eines Photosensibilisators wegen des Fehlens einer olefinischen Doppelbindung nicht in Reaktion treten.

Wie weitere Versuche von G. O. SCHENCK zeigen, reagieren *Furane* und ähnliche Verbindungen mit O_2 nach Art einer Diensynthese unter Bildung von Peroxyden des Ozonidtypus (*73*).

Die Möglichkeit der Aktivierung einer Doppelbindung durch Energiezufuhr (Triplettzustand) ist aber nicht nur auf eine C=C-Doppelbindung beschränkt. Sie findet auch bei der >C=O, >C=S, >C=N-Doppelbindung statt, wofür sich zahlreiche Beispiele geben lassen, wie etwa die neuere Untersuchung von R. PUMMERER und Mitarbeitern (*67*) über den photochemischen Aufbau verzweigter Kohlenstoffketten aus Äther und Formaldehyd.

$$\uparrow\downarrow\ >C=\underset{-}{\overline{O}} + \Delta E \rightarrow >\underset{\times}{C}-\underset{\times}{\overline{O}}|\ \uparrow\uparrow$$

In diese Gruppe von photosensibilisierten Reaktionen gehören z. B. die den obigen Reaktionen analogen Vorgänge bei Pyrrolen, Aldehyden, Aminen, Phenolen, vermutlich auch die sog. photodynamischen Erscheinungen, die durch fluoresceierende Farbstoffe erzeugten Lichtkrankheiten (z. B. Porphyrinurie), sowie sehr wahrscheinlich auch die Vorgänge bei der Assimilation der Kohlensäure.

Aber auch bei vielen anderen photochemischen Reaktionen spielen die Biradikalette eine wichtige Rolle. Wenn z. B. die Verbindung selbst die Rolle des Sensibilisators übernimmt, so liegt bei einer Reaktion mit Sauerstoff der Fall einer *photosensibilisierten Autoxydation* vor. Die Verhältnisse werden dadurch etwas komplizierter. Denn das z. B. aus Eosin durch Aufnahme eines Lichtquants je Molekel gebildete Biradikalett ist nur zu *einer* einmaligen Übertragung des Sauerstoffs befähigt (Quantenausbeute = 1), während Benzaldehyd (in Abwesenheit eines Fremdsensibilisators) durch Aufnahme eines Lichtquants in ein Benzaldehyd-Biradikalett übergeht, das ähnlich wie Trityl (*110*) nun eine sich immer wiederholende O_2-Übertragung bewirken kann, bis es in einer andersartigen Abfangreaktion irreversibel dem Spiel der Radikalette entzogen wird. Es erfolgt dann der Kettenabbruch. Diesen aus den Arbeiten von MOUREU, DUFRAISSE, WITTIG (*104*), (*105*), (*106*), (*108*), (*109*), G. O. SCHENCK (*72*) und anderen entwickelten Reaktionsmechanismus kann man wie folgt wiedergeben:

$$C_6H_5CHO\ \uparrow\downarrow + h\nu \rightarrow C_6H_5CHO\ \uparrow\uparrow$$
$$C_6H_5CHO\ \uparrow\uparrow + O_2\ \uparrow\uparrow \rightarrow [C_6H_5CHO :::: O_2]$$
$$[C_6H_5CHO :::: O_2] + C_6H_5CHO\ \uparrow\downarrow \rightarrow [C_6H_5CHOO_2] + C_6H_5CHO\ \uparrow\uparrow$$
$$[C_6H_5CHOO_2] + C_6H_5CHO\ \uparrow\downarrow \rightarrow 2\ C_6H_5COOH$$

Der Reaktionsstart erfolgt also wie bei der mit Fremdsensibilisatoren photosensibilisierten Sauerstoffreaktion. Da aber hier ein „art"-eigener

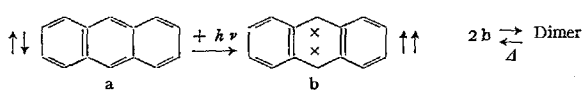
Sensibilisator verwandt wird, der auch bei der Endreaktion im Triplettzustand erscheint, verläuft die anschließende Reaktion als Kettenreaktion. Es wäre allerdings zu untersuchen, ob hier nicht etwa eine „quasi-Kettenreaktion" vorliegt oder tatsächlich eine „echte" Kette ausgebildet wird. Die Bildung und die Konstitution des „π-Komplexes" und des Moladduktes sind noch nicht sicher bekannt. Nach Versuchen, auf die wir anschließend zu sprechen kommen, scheint das Benzaldehyd-Biradikalett eine größere Lebensdauer zu besitzen als das Biradikalett des Eosins.

Diese verschiedenen Möglichkeiten des Reaktionsablaufs bei der Sauerstoffreaktion (Quantenausbeute $\leqq 1$ oder $\gg 1$) findet G. O. SCHENCK (*73*) bei den *Furan*-Oxydationen. So liefert z. B. das Furan zwei in ihren Eigenschaften völlig verschiedene Peroxyde, die nicht ineinander übergeführt werden konnten. Auch die Hydroperoxyde der sensibilisierten und nichtsensibilisierten Autoxydation des α-Methylcyclohexens sind verschieden voneinander.

c) Polymerisation, Dehydrierung. Aus dem gesamten Verhalten der bis jetzt bekannten Biradikalette läßt sich schließen, daß ihre Reaktionsbereitschaft wesentlich größer ist als die der stabilen freien Biradikale. Man findet daher auch bei den Biradikaletten außer den Sauerstoffreaktionen alle weiteren für Radikale charakteristischen Reaktionen in nur noch stärkerem Maße ausgeprägt. Ein Biradikalett gibt z. B. die Erscheinung der reversiblen Polymerisation, die dehydrierende Dimerisierung, Disproportionierung, Isomerisierung, Anlagerungen an Doppelbindungen, Reaktion mit Chinonen, Halogenen, Alkalimetallen, NO, Diazomethan usw.

Aus der Fülle dieser Erscheinungen können und sollen hier nur wenige besprochen werden, die mit der Auffindung neuer Tatsachen auf diesem Gebiet zusammenhängen.

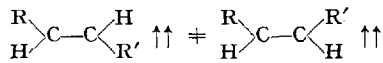
Polymerisationen. Bekannt ist die Fähigkeit des *Anthracens*, sich bei Sauerstoffausschluß unter Wirkung von Licht zu *dimerisieren* (*4*):



Grundsätzlich kann es zur Bildung kettenförmiger oder ringförmiger Polymerisate kommen. Die Polymerisation wird reversibel, wenn näherungsweise die Energie der Bildung der Polymerisate größer ist als die Bildungsenergie des Monomeren ($2\,\Delta E < E_{\text{Dimer}}$). Das Dimere ist dann thermodynamisch stabil im Hinblick auf die Molekeln im Singulettzustand. Wenn also ΔE relativ klein wird, kann man solche Polymerisationen erwarten. Das gilt natürlich nicht, wenn etwa durch sterische Faktoren die Polymerisationsmöglichkeiten behindert sind.

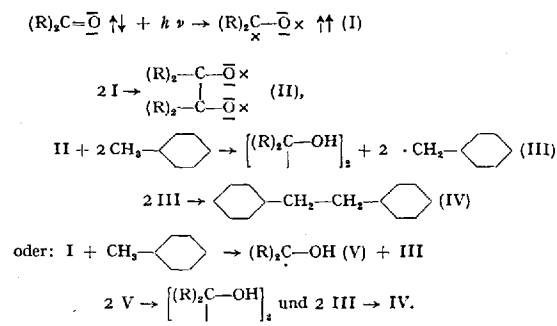
Beispielsweise polymerisieren die *aliphatischen Thioketone* sehr leicht, außer wenn die Polymerisation durch große raumerfüllende Gruppen, wie z. B. t-Butyl usw., behindert ist. Ähnlich liegen die Verhältnisse auch bei den *Nitroso*verbindungen. Von den *Photodimerisationen*, die sich im natürlichen Geschehen unter der Einwirkung des Sonnenlichtes abspielen, sind zahlreiche Beispiele bekannt. Erinnert sei an die Photodimerisierung der Zimtsäuren, des Herniarins (*15*) (Umbelliferonmethyläther) usw.

Interessant und von Bedeutung im Zusammenhang mit der Homolyse einer >C=C<-Doppelbindung ist dabei die bekannte Tatsache, daß bei der Belichtung der cis-trans-isomeren Zimtsäuren im festen Zustand zwei verschiedene Produkte, die *Truxill-* und *Truxinsäuren*, entstehen. Es muß also hier die stereochemische Lagerung der Ausgangsstoffe — selbst nach Auflösung der π-Bindung und Übergang in das Triplett (theoretisch wäre freie Drehbarkeit denkbar) — erhalten geblieben sein!



Das neu entstandene System ist dabei als ein Vierringsystem aufzufassen. Die π-Bindungen haben demnach den Charakter von σ-Bindungen angenommen. Daß sie ihren ursprünglichen Charakter aber nicht völlig aufgegeben haben, ergibt sich aus der relativ leicht erfolgenden Spaltung in die Ausgangskomponenten (Bestrahlen mit UV-Licht). (Hybridisierung der s- und p-Bindungen im Vierring?)

Dehydrierung. Die durch Lichteinwirkung intermediär gebildeten *Biradikalette* müssen in ihrer Lebensdauer vergleichbar mit aliphatischen freien Radikalen sein, denen sie in ihrer Reaktionsfähigkeit auch am nächsten stehen. Beispielsweise bildet sich bei *Belichtung* von *Benzaldehyd* in verdünnt alkoholischer Lösung unter Dehydrierung und Dimerisierung das Hydrobenzoin (*72*), und analog bilden sich aus *Benzophenon* bei *Belichtung* seiner toluolischen Lösung das Benzpinakon und Dibenzyl:

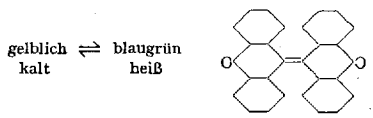


Bekannt ist ferner, daß auch viele andere, zum Teil fluoresceierende Farbstoffe, darunter auch zellphysiologisch wichtige Stoffe, bei Belichtung dehydrierend wirken und in ihre Leukoverbindungen übergehen. Auch das kann sich als „Kettenreaktion" vollziehen.

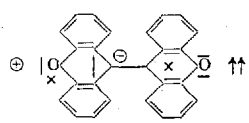
An Stelle von Sauerstoff können sogar Diketone treten, wie aus den neueren Versuchen von A. SCHÖNBERG und Mitarbeitern hervorgeht (*76*), (*78*). So reagiert *Phenanthrenchinon* mit Styrol, Stilbenen usw. bei Belichtung unter Bildung von Addukten, die beim Erwärmen wieder leicht in die Ausgangskomponenten zerfallen. Man sieht, daß offenbar alle Übergänge von einer festen, normalen Atombindung bis zu ganz lockeren Molekelverbindungen bei diesen „π-Komplexen" möglich sind.

3. *Thermochromie ungesättigter Verbindungen.*

In diesem Zusammenhang ist auch auf die Erscheinung der Thermochromie hinzuweisen. Beispielsweise ändert das *Dixanthylen* seine Farbe reversibel beim Erwärmen bzw. Abkühlen.



Das Dixanthylen wird beim Behandeln mit Schwefel oder mit PCl_5 leicht an seiner Doppelbindung aufgespalten, eine Reaktion, die für die Äthylene sehr ungewöhnlich, dagegen für freie Radikale charakteristisch ist. Man wird unter Berücksichtigung der bisherigen Erfahrungen vermuten dürfen, daß in geeigneten ungesättigten Verbindungen thermisch der Triplettzustand angeregt wird. Für die Mesomerie des Triplettzustandes (*75*), (*77*) kommen auch polare Formeln wie



in Betracht, die sowohl „vereinzelte" Elektronen mit parallelen Spins, wie auch eine polare Ladungsverteilung enthalten. Sie müssen ein größeres Übergangsmoment besitzen und daher tieffarbig sein (*54*). Diese Verbindungen sind übrigens im farbigen Zustand auch luftempfindlicher als im Singulettgrundzustand. Auch die Substituenteneinflüsse lassen sich unter diesen Gesichtspunkten verstehen. Erwähnenswert ist schließlich noch die Erscheinung der *Piezochromie*, die wohl ebenso wie die Thermochromie zu deuten ist.

4. β-Phosphorescenz ungesättigter Verbindungen.

Für die Existenz des Triplettzustandes bei Lichtanregung ungesättigter Verbindungen lassen sich außer dem sehr wichtigen Versuch des direkten, unmittelbaren Nachweises des Paramagnetismus (*34*) (vgl. S. 389) auch die Ergebnisse der neueren spektralanalytischen Untersuchungen von G. N. LEWIS über die Erscheinung des Nachleuchtens heranziehen (*32*), (*33*).

a) Emissions- und Absorptionsspektren als $^1\Sigma \rightleftarrows {}^3\Sigma$*-Übergänge.* Es läßt sich auf Grund der beobachteten Emissions- und Absorptionsspektren zeigen, daß die sog. *β-Phosphorescenz* mit dem unter Lichtemission

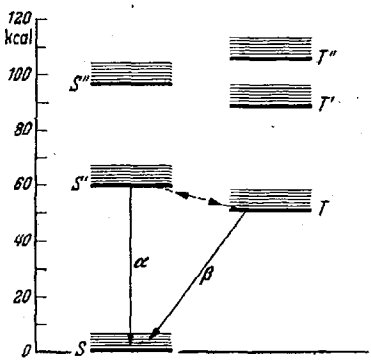


Abb. 18.

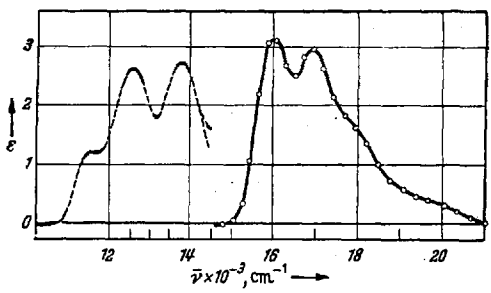


Abb. 19.

Abb. 18. JABLONSKI-Diagramm des Fluoresceins in Borsäureglas (zum Teil nach LEWIS, LIPKIN und MAGEL).

Abb. 19. Rechts: Molare Extinktion des Thiobenzophenons in Ä, A, PÄ bei 90° K; links: photographische Aufzeichnung der Phosphorescenzemission des Thiobenzophenons in Ä, A, PÄ bei 90° K. Der Abbruch des Phosphorescenzspektrums links stammt von der Unempfindlichkeit der photographischen Platte für Frequenzen unter 11000 cm^{-1}. Der kleine Schwanz rechts ist vermutlich durch eine Verunreinigung mit Benzophenon bedingt.

erfolgenden *Übergang* aus einem *Triplett-* in den *Singulettzustand* (Grundzustand) einer Verbindung zusammenhängt, daß also die Phosphorescenz durch eine „quasi verbotene Interkombinationsschwingung" der Molekel zustande kommt. Dafür spricht auch die verhältnismäßig lange Lebensdauer des Phosphorescenzzustandes im Vergleich mit der des Fluorescenzzustandes. Diese quasi verbotenen Übergänge zwischen Zuständen verschiedener Multiplizität erhöhen die Lebensdauer des Phosphorescenzzustandes. Außerdem lassen sich auch Absorptionsspektren auffinden, die dem umgekehrten Übergang Singulett → Triplett entsprechen und deren Absorptionskurven das Spiegelbild zu denen der Übergänge Triplett—Singulett darstellen (Abb. 18 und 19).

Diese neuen Absorptionsbanden unterscheiden sich auch sehr deutlich von den gewöhnlichen Banden, die dem Übergang zwischen zwei Singulettzuständen entsprechen. Die Intensität der S—T-Absorption kann man aus der Lebensdauer des entsprechenden Phosphorescenzzustandes berechnen. Ist diese Lebensdauer gering, dann gibt die

S—T-Absorption Anlaß zum Auftreten bemerkenswerter Farben, wie z. B. bei den *Nitroso*verbindungen und den *Thioketonen*. Besonders verdient hervorgehoben zu werden, daß das *Phosphorescenzphänomen nicht* nur auf die Beobachtungen im festen oder *glasigen Zustand* der *Lösungsmittel* und auf *tiefe Temperaturen beschränkt* ist, sondern sich *auch im flüssigen Zustand, in Lösungen* und *sogar im Gaszustand* und nicht nur bei organischen Verbindungen, sondern auch bei einigen anorganischen Stoffen, wie CO_2, SO_2, nachweisen läßt. Die beobachtete größere Lebensdauer der Triplettzustände in festen Lösungen und bei tiefen Temperaturen ist daher nur ein Ergebnis der bei höheren Temperaturen und in flüssigen Lösungen vergrößerten Wahrscheinlichkeit der Phosphorescenzlöschung durch Zusammenstöße mit umgebenden Molekeln. Im übrigen sind diese Phosphorescenzlöschungen, wie im voranstehenden gezeigt, in theoretischer und praktischer Hinsicht von gleich großer Bedeutung und wert, weiter verfolgt zu werden.

Die *Energie des Triplettzustandes* läßt sich aus der Phosphorescenzbande höchster Frequenz mit einer maximalen Intensität bei dieser Frequenz $\bar{\nu}_P$ berechnen. Die Bande entspricht näherungsweise dem Übergang aus dem Triplett in den schwingungslosen Zustand der Molekel (Singulettzustand). Es wird mit

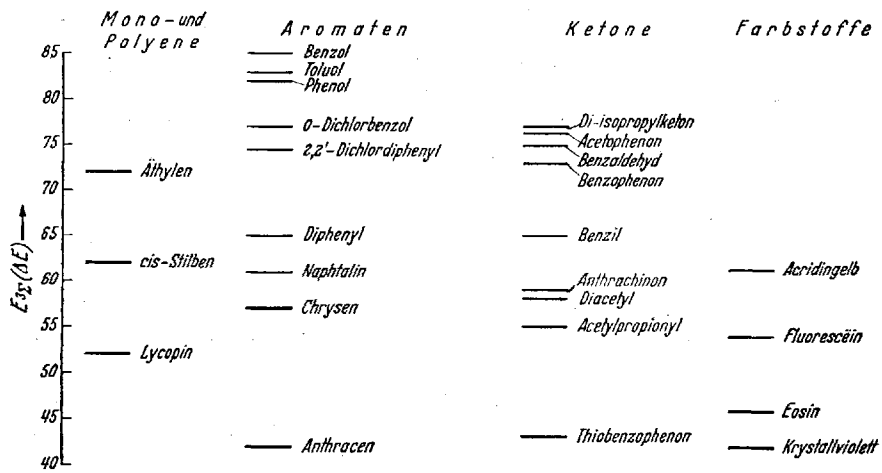
$$E_{^1\Sigma_0} = 0: \quad E_{^3\Sigma_1} = h\,c\,(\bar{\nu}_P + \Delta\bar{\nu}) \tag{1}$$

oder für

$$E_{^1\Sigma} \neq 0, \qquad \Delta E = E_{^3\Sigma} - E_{^1\Sigma}, \qquad \Delta E = h\,c\,(\bar{\nu}_P + \Delta\bar{\nu})$$

worin $\Delta\bar{\nu}$ ein zusätzliches Korrekturglied, die halbe Bandenbreite bei der Frequenz $\bar{\nu}$, darstellt. Das Korrekturglied spielt nur dann

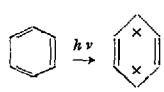
Tabelle 20. *Triplettenergien einiger ungesättigter Verbindungen.*



eine Rolle, wenn die Bande relativ breit ist. Die Werte von $\Delta\bar{\nu}$ schwanken von weniger als 100 cm^{-1} bis zu mehreren 1000 cm^{-1}. Einige der so ermittelten $E_{^3\Sigma}$ bzw. ΔE-Werte finden sich in Tabelle 20 zusammengestellt.

Es würde den Rahmen dieser Darstellung überschreiten, hier auf alle Einzelheiten der aus der Bestimmung der Lage des Triplettzustandes sich ergebenden Schlüsse bezüglich der Konstitution der ungesättigten Verbindungen einzugehen. Nur an wenigen Beispielen soll gezeigt werden, wie diese Schlüsse gewonnen werden, und was aus ihnen für die *Konstitution der Stoffe im Triplettzustand* folgt.

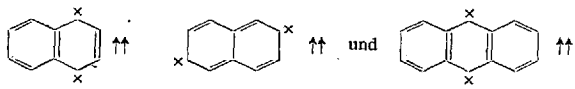
b) Analyse der $^3\Sigma$-Spektren ungesättigter Verbindungen. Aus der Analyse des *Phosphorescenz-* und des *vollständigen Absorptionsspektrums* des *Benzols* kann man schließen, daß die Molekel im $^3\Sigma$-Zustand sehr erheblich sowohl nach Größe wie Gestalt von den Molekeln im Normalzustand ($^1\Sigma$) abweicht. Am besten paßt zu den Beobachtungen ein Bild der Benzolmolekel, die im $^3\Sigma$-Zustand um die eine Achse verlängert (oder komprimiert) und durch Drehung um dieselbe Achse aus der Ebene herausgedreht ist. Aus den gemessenen $\bar{\nu}_P$-Werten bzw. aus $\lambda = 3400$ Å berechnet sich die Energie ΔE zu $\sim$85 kcal/Mol. Setzt man versuchsweise $\Delta E = \Delta B + \Delta E_R$, worin ΔB die Differenz der Bindungsenergien von $>C{=}C<$ und $\gtrless C{-}C\lessgtr$ und ΔE_R die Differenz der Mesomerieenergien von $E_R^{^1\Sigma} - E_R^{^3\Sigma}$ ist, dann erhält man für ΔE_R den Wert $85 - (100 - 59) = 85 - 41 = 44$ kcal/Mol. Da die Mesomerieenergie des Singulettzustandes ebenfalls in dieser Größenordnung liegt (37 kcal Mol), muß die *Mesomerieenergie des Triplettzustandes* praktisch *Null* sein. Durch den Übergang $^1\Sigma \rightarrow {}^3\Sigma$ wird demnach eine so beträchtliche Störung des Normalzustandes der Benzolmolekel erreicht, daß die Mesomeriemöglichkeiten ausscheiden. Trotzdem die obige Gl. (1), worauf später noch zurückgekommen wird, nur in sehr grober Abschätzung die wahren Verhältnisse wiedergeben kann, so ist es doch näherungsweise möglich, sich folgendes Bild über die *Konstitution* der *Benzolmolekel* im *Triplettzustand* zu machen: durch den Übergang $^1\Sigma \rightarrow {}^3\Sigma$ wird sehr wahrscheinlich der para-Triplettzustand ausgebildet



wobei die vorher in 1- und 4-Stellung doppelt gebundenen C-Atome in einfach gebundene übergehen und sich dem Tetraederzustand annähern. Diese „Aliphatisierung" der para-ständigen C-Atome bedingt ein Herausklappen aus der Ebene, soweit dies unter solchen Bedingungen möglich ist. Auch die C-Atome 2,3 und 5,6 werden aliphatisiert, was eine Abstandsverkürzung im Gegensatz zu der Abstands-

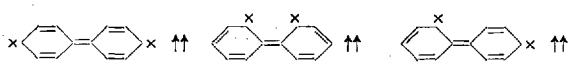
verlängerung der Bindungen zwischen 1 und 2 bzw. 6,4 und 3 bzw. 5 bedeutet. Im Endergebnis findet also eine Streckung um die Längsachse statt, so wie es aus der Bandenanalyse der Phosphorescenz folgt. Das *Triplettbenzol* nähert sich daher in seiner *Konstitution* einem *1,4-Dihydrobenzol*. Interessant ist ferner, daß sich für das *Toluol-Biradikalett zwei isomere Formen* ergeben, je nachdem, ob das die Methylgruppe tragende C-Atom Träger eines „odd"-Elektrons ist oder nicht.

Im Gegensatz zum Benzol ergeben sich bei *Naphthalin* und *Anthracen* steigende Werte der MEE des Triplettzustandes, was man in Formeln wie



in Übereinstimmung mit chemischen Befunden gut zum Ausdruck bringen kann.

Für das *Diphenyl* ergeben sich Resonanzmöglichkeiten mit Formeln, die zwischen den Kernen eine Doppelbindung besitzen.



Das bedeutet eine Verminderung von $E_{^3\Sigma}$ durch diese Mesomerie. Dagegen findet man bei Besetzung der 4 ortho-Stellungen durch Chloratome ein starkes Anwachsen dieser Energie, d. h. die Doppelbindung zwischen den Kernen kann *nicht* mehr ausgebildet werden, und jeder Kern wirkt für sich wie ein Dichlorbenzol. (Das o,o'-Tetrachlor-diphenyl ist im Triplettzustand kein Biradikal, sondern ein Biradikalett, auch bei gedrehten Kernen!) Es ist im übrigen interessant, daß neben den schon erläuterten Befunden an den atropen Diphenylen auch das Phosphorescenzspektrum ähnliche Gesetzmäßigkeiten zu erkennen gibt, wie sie durch magnetische Untersuchungen und Analyse der UV-Spektren aufgefunden worden sind. Durch Anwendung dieser verschiedenen voneinander unabhängigen Methoden erhalten die aufgefundenen Beziehungen eine erhöhte Sicherheit.

Aus dem Phosphorescenzspektrum des *Lycopins* läßt sich schließen, daß die beiden „odd"-Elektronen mit ↑↑ sich im wesentlichen an den Enden der konjugierten Kette befinden und nicht, oder nur in sehr geringem Umfang, andere denkbare Lagen aufsuchen.

Eine bei einem Präparat mit trans-cis-Lagerung vorgenommene vorläufige Abschätzung in der Bandenzuordnung liefert für $E_{^3\Sigma}$ einen Wert von rund 52 kcal/Mol ($\bar{\nu}_P = 18\,300\ \mathrm{cm}^{-1} = 5400$ Å), woraus sich nach Gleichung (1) (S. 398) $\Delta E_R = 7$ kcal berechnet. Wenn keine „odd"-Elektronmesomerie statthat, muß die Mesomerieenergie des Triplettzustandes ungefähr gleich der des Singulettzustandes, vermindert um den Wert einer Doppelbindung, sein.

Der Wert von 7 kcal stimmt gut mit diesen Anschauungen überein. Daneben findet man im Phosphorescenzspektrum noch eine Bande bei 25000 cm^{-1} = 4000 Å, die offensichtlich von der isolierten endständigen Doppelbindung des Lycopins herrührt. Die gleiche Bande findet man bei Äthylenderivaten.

Besonders interessant sind die Verhältnisse beim *Äthylen*.

Für den nicht direkt gemessenen Wert des Übergangs Singulett-triplettäthylen kann man aus den Bestimmungen an *sym.-trans-Dihalogenäthylenen* aus den Phosphorescenzspektren einen Energieaufwand von 70—74 kcal/Mol abschätzen. Dieser Wert stimmt fast zu gut mit dem von H. HARTMANN (*24*) berechneten Wert von 72 kcal/Mol überein, da in der Berechnung von HARTMANN der Abstand der Triplettatome gleich dem der Singulettatome angenommen ist.

$$\uparrow\downarrow\ CH_2{=}CH_2 + 72\ \text{kcal} \rightarrow \overset{\times}{C}H_2{-}\overset{\times}{C}H_2\ \uparrow\uparrow$$

G. N. LEWIS schätzt den Energieaufwand zum Aufheben der einen Atombindung in der Doppelbindung auf etwa 45 kcal als Differenz der Bindungsenergien von C=C (100 kcal) und C—C (58,6 kcal). Zieht man diesen Wert von dem gemessenen $^3\Sigma$-Energiewert ab, (74 — 45), so bleiben 29 kcal übrig, die G. N. LEWIS auf die „repulsive energy" im Triplettzustand des Äthylens zurückführt.

Der von LEWIS zum Vergleich herangezogene Wert der Triplettenergie der Wasserstoffmolekel (200 kcal/Mol), der auf eine große Abstoßungsenergie der Elektronen mit parallelen Spinmomenten hindeutet (eine Abstoßungsenergie, die ihrerseits wieder sehr rasch mit der Entfernung abnimmt), dürfte für die Verhältnisse beim Äthylen nicht zutreffen. Eher könnten schon die Verhältnisse beim Sauerstoff zu einem, aber auch nur sehr unzulänglichen, Vergleich herangezogen werden.

In allen Elektronenformeln des O_2 müssen wegen des Vorliegens eines Triplettzustandes die zwei nicht bindenden Elektronen parallele Spinmomente haben. Trotz der auch hier zunächst denkbaren Abstoßungskraft der π-Elektronen mit paralleler Spinanordnung findet man aber in Wirklichkeit eine Verkürzung des O=O-Abstandes im Vergleich zum O—O-Abstand.

$$|\overline{O}{-}\overline{O}|\ \ |\overset{\times}{\underset{\times}{O}}{-}\overline{O}|\ \ |O{:::}O|\ \ \uparrow\uparrow$$
$$\qquad\qquad\ \ \oplus\ \ \ominus \qquad\quad \times\ \ \times$$

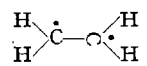
Eine Ursache hierfür sieht man in der durch polare Formeln im Triplettzustand vergrößerten Mesomerieenergie, deren Energiebeitrag die Abstoßungskräfte $\uparrow\uparrow$ nicht nur kompensiert, sondern darüber hinaus sogar für einen noch engeren Zusammenhalt der O-Atome Sorge trägt. Eine weitere Deutungsmöglichkeit wird in dem Vorhandensein einer *dreielektronischen* Bindung (*63*), (*100*) gesehen. Die der O_2-Molekel eigentümliche, relativ leichte Polarisierbarkeit findet man, wenn auch in abgeschwächtem Maße, beim Kohlenstoff wieder. Man wird daher auch im Triplettzustand des Äthylens mit einer Mesomerie mit polaren Grenzformeln rechnen müssen. Sie ganz zu vernachlässigen, dürfte nicht exakt sein.

$$\hat{C}H_2{-}\overset{\times}{C}H_2 \leftrightarrow \overset{\times\times}{\underset{\ominus}{C}}H_2{-}\underset{\oplus}{C}H_2 \leftrightarrow \underset{\oplus}{C}H_2{-}\overset{\times\times}{\underset{\ominus}{C}}H_2\ \ \uparrow\uparrow$$

Bei der Aufhebung der „zweiten" Bindung des Äthylens gehen die Kohlenstoffatome in den Zustand der einfach gebundenen C-Atome über. Dieser Übergang zur tetraedrischen Lage bedingt eine Abstands- und Winkeländerung (von 1,34 auf mindestens 1,54 Å und Winkeländerung von 120° auf 109°). Diese drei Faktoren, Polarisierung, Abstands- und Winkeländerung, bedeuten einen Gewinn an Energie beim Übergang aus dem Singulett- in den Triplettzustand, so daß die von LEWIS zu 29 kcal geschätzte repulsive energy sicher zu hoch ist. Ihre wahre Größe wird man erst beim Vorliegen diesbezüglicher Untersuchungen kennenlernen.

Mit der Ausbildung des Triplettzustandes ist aber noch eine andere Eigenschaft der C-Atome verbunden, die, wie die einschlägigen Versuche gezeigt haben, hier von besonderer Bedeutung für die Charakterisierung dieses Bindungszustandes ist.

Aus den Existenzbedingungen der Biradikale folgt, daß die beiden Molekelhälften weitgehend unabhängig voneinander sein müssen, was z. B. durch Querstellung der beiden Molekelhälften erreicht werden kann. Im Falle des Äthylens soll die folgende Formel diesen Biradikalzustand verdeutlichen:



Damit haben die beiden vereinzelten π-Elektronen ihren Charakter als π-Elektronen verloren, jedenfalls im Hinblick auf die ursprüngliche Doppelbindung (*27*). Ihre Spinmomente verteilen sich nach statistischen Wahrscheinlichkeitsgesetzen im Gewicht ihrer Zustände wie $^1\Sigma : {}^3\Sigma = 1 : 3$. Das ist als experimentelles Ergebnis sichergestellt.

Die im Triplett vorhandene Einfachbindung bietet grundsätzlich die Möglichkeit zum Auftreten einer freien Drehbarkeit. Berechnet man die Energien in Abhängigkeit von der Größe des Drehwinkels φ einer CH_2-Gruppe im Vergleich zu der anderen CH_2-Gruppe, so gelangt man zu Werten, die in der Abb. 20 wiedergegeben sind (*27a*). Die Energie des Triplettzustandes T fällt bei der Drehung stark ab und erreicht gegen $\varphi = 90°$ ihr Minimum. Dagegen steigt die Energie des Normalzustandes bei der Drehung an bis zu einem maximalen Wert bei $\varphi = 180°$. (Bei $\varphi = 90°$ schneidet sie die Energiekurve eines angeregten, ionischen Zustandes N', mit dem hier Resonanz eintritt.) Bei einem φ von etwa 60° schneidet die N-Kurve auch die Triplettkurve T. Hier ist $\Delta E = 0$ (Entartung), es liegt das Biradikal vor. Die Anregung des Biradikalzustandes ist energetisch wesentlich günstiger als die des ebenen Tripletts, hat aber eine Drehung der Molekelhälften um mindestens 60° zur Voraussetzung.

Die Radikalreaktionen dürften sich bei diesem Schnittpunkt der $T-N$-Kurven vollziehen. Man sieht, von wie großer Bedeutung die „Raumlage" der ungesättigten Verbindung für das reaktive Verhalten ist. Gelingt es auf irgendeinem Wege, die ebene Anordnung der Doppel-

bindung zu stören, z. B. durch Peroxyde (Polymerisation von Vinylverbindungen durch intermediäre Komplexbildung, H-Brücken, $=CH_2$-Teil) oder durch paramagnetische Atome, Molekeln und freie Radikale (Polymerisation von Vinylverbindungen durch $C_6H_5COO^{\bullet}$, $C_6H_5^{\bullet}$, $(C_6H_5)_2\dot{C}CN$, $CH_3^{\bullet}$, $Na^{\bullet}$ usw., cis-trans-Isomerisierungen), dann ist eine viel geringere Aktivierungsenergie erforderlich (~ 25 kcal), und der Frequenzfaktor (Häufigkeitszahl) ist ebenfalls groß (*14a*), (*35a*).

Etwas einfacher als beim Äthylen liegen die Verhältnisse bei Verbindungen mit mehreren, konjugierten Doppelbindungen. Schon wegen

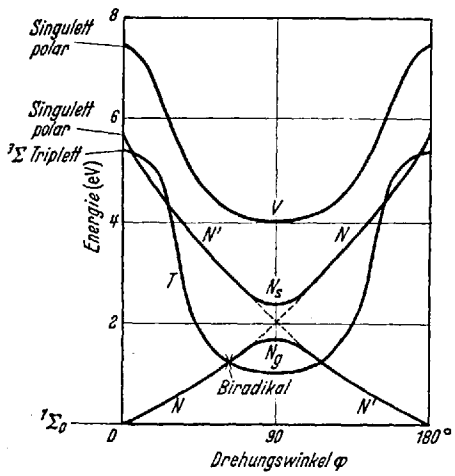


Abb. 20. Schematisches Diagramm der Energiestufen im Äthylen in Abhängigkeit vom Drehungswinkel φ (*27a*).

der größeren Entfernung der betreffenden C-Atome (die repulsive energy wird Null) und der je nach Konstitution vorhandenen Konjugationsenergie (Polyene, ω,ω'-Di- und Tetraarylpolyene, Chinodimethide und p,p'-Tetraarylchinodimethide) ist eine größere Neigung der Molekeln zur Einnahme des ebenen Triplettzustandes vorhanden.

Schließlich bleibt noch die Erörterung der Triplettzustände von Molekeln, die eine $-N=O$, $>C=O$, $>C=S$, $-N=N$-Gruppe enthalten. Von diesen Gruppen zeigt die Nitrosogruppe den kleinsten Wert für den $S \rightarrow T$-Übergang (40 kcal/Mol). Die $-N=O$-Gruppe stellt offenbar das beste Analogon zum Sauerstoff dar. Die beiden Atome werden durch Mesomerie, auch mit polaren Formen, im Triplettzustand zusammengehalten (ebene Anordnung). Ähnlich dürften die Verhältnisse auch bei den anderen, oben erwähnten Gruppen sein. Die ersten Glieder der von ihnen ausgehenden „homologen" Reihe ungesättigter Verbindungen werden dabei eine gewisse Sonderstellung einnehmen können wie das Äthylen.

Aus den vorliegenden Untersuchungen kann man den Schluß ziehen, daß mit großer Wahrscheinlichkeit *alle* ungesättigten (doppelbindungshaltigen) organischen Verbindungen durch entsprechende Energiezufuhr in den Triplettzustand übergehen können. Die Größe dieser Energiezufuhr hängt von der „Raumlage" der Doppelbindung ab; sie nimmt mit zunehmender Größe des Drehungswinkels der $C(X)_2$-Gruppen ab und erreicht beim Biradikal ($\varphi \to 90°$) ihr Minimum.

c) Ableitung der Biradikalette aus dem Periodensystem. In gesättigten Molekeln, wie Methan oder Ammoniak, ist es unmöglich, eines der normalen Elektronenpaare in zwei Elektronen mit parallelen Spins zu verwandeln. Gemäß dem PAULI-Prinzip müßte dann eines der Elektronen auf eine andere, entferntere Elektronenschale (orbital) gehoben werden, was eine sehr große Energie erfordert. Daher kann man den Triplettzustand nur in Molekeln mit unvollständigen Elektronenschalen erwarten, z. B. bei $B(R)_3$ oder C_2H_4. Gemäß der Stellung der Elemente im *Periodensystem* läßt sich die folgende Reihe für die Triplettausbildung aufstellen:

$$B(R)_3 \quad C(R)_2 \quad N(R) \quad O \qquad (R{=}H \text{ oder } \neq H).$$

Nur für den Sauerstoff, den Schwefel und deren Kombination, das SO, ist der Triplettzustand der Grundzustand. In allen anderen Fällen liegt normalerweise der Singulettzustand niedriger als der Triplettzustand.

Von den Verbindungen der obigen Reihe (mit R=H) liegen für das *Methylen* neuere Beobachtungen und Berechnungen vor (*3*) (*62*). Nach diesen Untersuchungen soll $\Delta E \sim 27$ kcal/Mol betragen und der Triplettzustand vielleicht der Grundzustand sein. Für die Gestalt des Methylens ergibt sich eine Valenzwinkelungsaufweitung auf 145° $\widehat{HCH}$ als sehr wahrscheinlich (*97*). Hinzu kommt eine Bastardisierung der C-Valenz: $s \to p$. Für die Bildung des CH_2 kommen Reaktionen wie $CH_2X_2 + 2\,Na \to 2\,NaX + CH_2$ (*2*) oder die photochemische Zersetzung von Diazomethan oder Keten in Betracht (*62*), (*64*). Die Lebensdauer des Radikaletts berechnet sich auf etwa $5 \cdot 10^{-3}$ sec. In seiner Reaktionsfähigkeit gleicht das Methylen anderen freien aliphatischen Radikalen.

Das intermediäre Auftreten von Methylen liegt vermutlich auch bei folgenden Reaktionen vor: Belichtet man eine ätherische Diazomethanlösung, so bildet sich nach den Untersuchungen von MEERWEIN (*39*) Äthyl-n-propyl- und Äthyl-iso-propyl-äther, und aus Tetrahydrofuran entsteht unter diesen Bedingungen α- und β-Methyltetrahydrofuran. Schon lange bekannt ist ferner die Bildung eines „Polymethylen", wenn man ätherische Diazomethanlösungen am Licht stehen läßt. Die Reaktion mit Sauerstoff scheint noch nicht untersucht zu sein.

Neben der Methylenbildung beim Belichten von Diazomethan ist primär eine Anregung der >C=N-Doppelbindung zu erwarten. Dafür scheint zu sprechen, daß bei den MEERWEINschen Versuchen N-haltige Nebenprodukte auftreten, die ihrerseits offenbar in einer homologen Reihe vorliegen.

Beim N—R sind die Verhältnisse noch wenig untersucht. Man wird an die Reihe früherer Versuche über das angebliche Vorkommen von einwertigen N-Radikalen (Phenylimid usw.) erinnert.

Auf die besonderen Verhältnisse beim Bor kann hier nicht eingegangen werden.

Verdoppelt oder kombiniert man die obigen Atomgruppen oder Atome der ersten Periodenreihe, so gelangt man zu folgenden Verbindungen (s. Tabelle 21, S. 406, 407).

Durch Übergang von den „Monoenen" (I) zu den Polyenen (II), sei es mit offener (II_1) oder ringförmiger (II_2) und (II_3) Anordnung der Doppelbindungen, kann man die zahlreichen ungesättigten organischen Verbindungen und ihre Tripletts aus den obigen Grundtypen herleiten. Bei den ringförmigen Polyenen ergeben sich weiterhin zwei Untergruppen, je nachdem das Triplettatom an der Ringbildung teilnimmt (II_2a) oder nicht (II_2b) (endo- und exocyclische Triplettatome). Verlängerung der Ketten und Ringe, verschiedene Substituenten, ein- oder mehrfache Angliederung von aromatischen oder aliphatischen Ringen an die zentralen Ringsysteme führt zu der bekannten Fülle von organischen Stoffen mit ungesättigten Bindungen, deren „Radikalzustand" als ein Triplettzustand im Lichte der neueren Forschungsergebnisse angesehen werden kann.

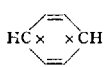
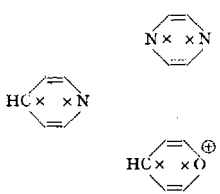
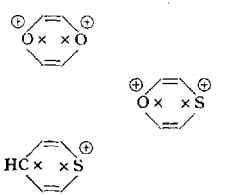
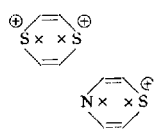
Die Bedingungen zum Auftreten von Biradikalen sind genauer bisher nur bei den vom CH_2=CH_2-Typus sich ableitenden Verbindungen untersucht worden. Es ist anzunehmen, daß ähnliche Bedingungen zum Auftreten freier Biradikale auch bei den anderen Stofftypen maßgebend sind.

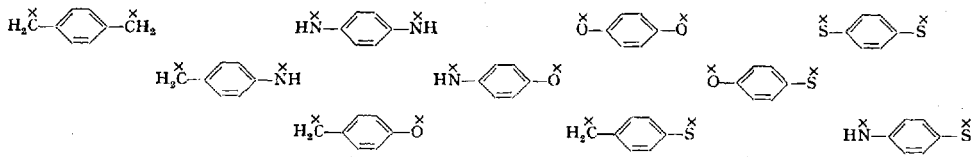
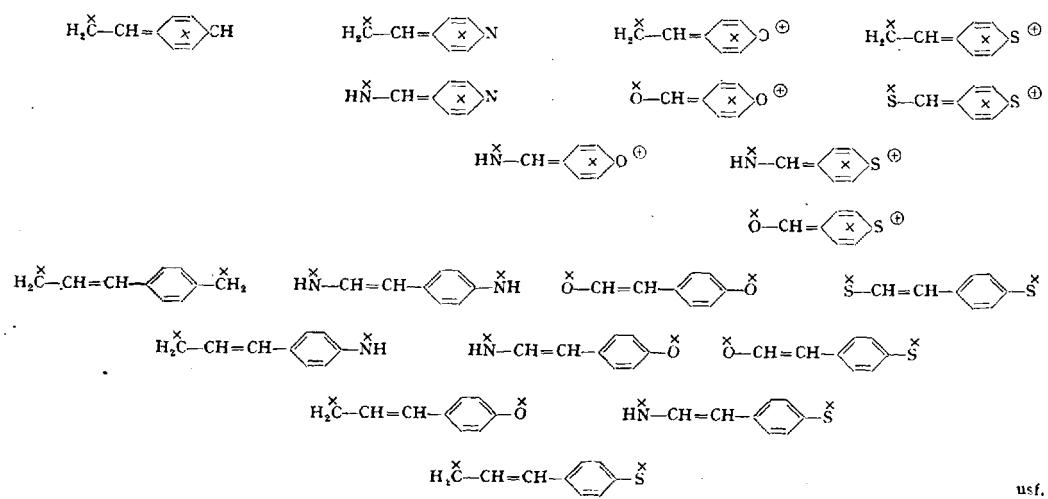
Insgesamt betrachtet stellt sich somit der „Radikal"zustand ungesättigter Verbindungen als ein Triplettzustand dar, während der eigentliche Biradikalzustand ein physikalisch und chemisch davon unterscheidbarer Grenzfall ist.

X. Valenztautomerie oder Mesomerie?

Nach dem voranstehenden ist es nicht mehr schwer, das oft umstrittene Problem der *Valenztautomerie* zu klären. Das Problem hat sich im Laufe der Entwicklung der organischen Chemie insofern als recht fruchtbar erwiesen, als es zu immer neuen theoretischen und praktischen Untersuchungen den Anlaß gab, und damit die Entwicklung des ganzen Gebietes sehr förderte.

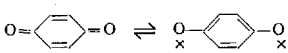
Tabelle 21. *System der Triplettformen ungesättigter Verbindungen.*

Verbindungsgruppen	BH_2	$\times CH_2\times$	$\times NH\times$	$\times O\times$	$(\times S\times)$
I *Mono„ene"*	H_3BBH_3	$H_2C{-}CH_2$ $H_2C{-}NH$	$HN{-}NH$ $HN{-}O$	$O{-}O$ $H_2C{-}O$	$S{-}S$ $O{-}S$ $HN{-}S$ $H_2C{-}S$
II, 1 *Poly„ene"* offenkettig		$H_2C{-}CH{=}CH{-}CH_2$ $H_2C{-}CH{=}CH{-}NH$	$HN{-}N{=}N{-}NH$ $O{-}N{=}N{-}O$ $HN{-}CH{=}CH{-}NH$ $HN{-}CH{=}CH{-}O$	$O{-}N{=}N{-}S$ $O{-}CH{=}CH{-}O$ $O{-}CH{=}CH{-}S$	$S{-}N{=}N{-}S$ $S{-}CH{=}CH{-}S$ $HN{-}CH{=}CH{-}S$ usf.
II, 2 *Poly„ene"*, ringförmig a) endocyclische Triplettatome					 usf.

II, 2 *Poly„ene"*, ringförmig, b) exocyclische Triplettatome.	 usf.
II, 3 *Poly„ene"* offenkettige und ringförmige endo- oder (und) exocyclische Triplettatome.	 usf.

[1] Ersatz von NH durch N_2 führt zu Diazomethanen.

Der von H. WIELAND geprägte Begriff versuchte durch die Formulierung eines Biradikalzustandes das besonders auffällige reaktive Verhalten von Chinonen, Chinonimiden und Chinodimethiden zu erklären. In allen diesen Fällen sollte es sich um die Ausbildung eines Gleichgewichtszustandes handeln zwischen einer Molekel im normalen und einer im angeregten Bindungszustand mit zwei freien Valenzen, z. B.



Besonders typisch ist der Fall des im Laufe der vorliegenden Arbeit schon mehrfach erwähnten TSCHITSCHIBABINschen Kohlenwasserstoffs. Er zeigt ein so ausgesprochen radikalartiges Verhalten, daß man hier ein Gleichgewicht annahm, das praktisch ganz zugunsten des Biradikals verschoben ist. Der Begriff „Valenztautomerie" wandelte sich dann im Laufe der Zeit. Während H. WIELAND mehr an ein stoffliches Gleichgewicht dachte, wurde unter dem Einfluß der Mesomerievorstellung der Begriff modifiziert. E. WEITZ (*98*), (*99*) bezeichnete derartige Verbindungen als „Quasi-Diradikale", während E. CLAR (*6*) Diylzustände formulierte, die „als Anregungszustände gedacht werden, in denen die Verbindungen chemische Reaktionen eingehen und Strahlungsenergie aufnehmen können". [Siehe ferner A. SCHÖNBERG (*74*).] Schließlich wurde von G. WITTIG (*103*), (*107*) das „chinoide" Problem auf den ungesättigten Zustand der Olefine allgemein übertragen und vermutet, daß sich das Polyenmolekül in einem Zustand befindet, der „zwischen den eingrenzenden Strukturen eines Chinons und Diyls liegt" (Mesomerie). Quasidiradikale sind demnach keine vollkommen freien Radikale, sondern Verbindungen, „deren eine valenztautomere Extremform ein Biradikal ist" (*99*).

Zur Beurteilung der Sachlage ist folgendes zu beachten:

1. Ein Schluß auf die Molekelstruktur im Grundzustand allein aus chemischen Reaktionen ist nicht immer bindend möglich. Die *besondere Reaktivität* dieser Systeme mit meist chinoiden Bindungsanordnungen beruht, wie SEEL gezeigt hat (*85*), auf der Größe der Entkopplungsenergie von Teilen ihrer π-Elektronensysteme, ist also ein *Ergebnis* des *Mesomerieeffektes*.

2. Zwischen zwei Zuständen *verschiedener Multiplizität* (Singulett- und Triplettzustand) ist *eine Mesomerie nicht* möglich. Die Mesomerie beschränkt sich vielmehr auf jeden der beiden Zustände für sich.

3. Durch Zufuhr von *Energie* kann eine Molekel aus dem diamagnetischen *Singulett-* in den paramagnetischen *Triplett*zustand gehoben werden. Diese Energiezufuhr kann auf verschiedene Weise erfolgen, z. B. thermisch oder optisch. Die Größe der aufzuwendenden Energie ist gleich der Energiedifferenz der beiden Zustände und kann alle Werte — soweit es sich bisher übersehen läßt — von 80 bis weniger als 1 kcal/Mol betragen. Der Triplettzustand besitzt parallele Spinmomente und ein magnetisches Moment von $\sqrt{8}\,\mu_B$.

4. Ein Biradikal liegt nur dann vor, wenn außer der „*Vereinzelung*" der *beiden π-Elektronen zusätzlich* eine *Unabhängigkeit der π-Elektronenteilsysteme* durch irgendwelche sterischen Faktoren gewährleistet ist.

Behält man den ursprünglichen Biradikalbegriff bei, so kann man daher sagen, daß eine Valenztautomerie nur möglich ist, wenn in einer geeigneten Verbindung ein derartiges Gleichgewicht zwischen Molekeln normaler Bindungsanordnung und Biradikalen *experimentell* nachgewiesen werden kann. Die formelmäßige Wiedergabe dieser Verhältnisse am Äthylen sei noch einmal gegeben:

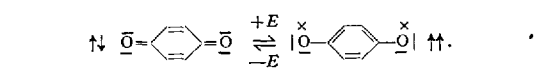
$$\uparrow\downarrow \quad CH_2{=}CH_2 \rightleftharpoons H_2\dot{C}{-}\dot{C}\!\begin{matrix}H\\H\end{matrix} \quad (\uparrow\downarrow : \uparrow\uparrow = 1 : 3).$$

Dies wäre im klassischen Sinne eine Valenztautomerie. Einen sicheren experimentellen Anhalt für das Vorliegen eines solchen Gleichgewichts hat man bis jetzt *nicht* gefunden. Dies will nicht besagen, daß es grundsätzlich nicht doch existieren könne. Möglicherweise liegen solche Gleichgewichte, wie schon früher erwähnt, bei den meratropen Diphenylen vor.

Der reversible Übergang eines Stoffes, z. B. aus einem stabilen Singulett- in den metastabilen Triplettzustand oder umgekehrt, ist möglich und experimentell bewiesen. Er hängt von der Größe der zu überwindenden Energie des höher gelegenen Zustandes ab: $|\Delta E| > 0$. In diesem Sinne ist bei allen ungesättigten Verbindungen der Übergang aus einem normalen Grundzustand (im Falle des Singuletts stets mit normalen Doppelbindungen) in einen (biradikalähnlichen) angeregten Zustand, den Triplettzustand gegeben.

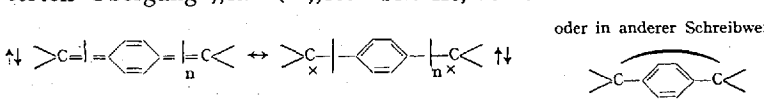
$$\uparrow\downarrow \quad H_2C{=}CH_2 \underset{-E}{\overset{+E}{\rightleftharpoons}} \overset{\times}{C}H_2{-}\overset{\times}{C}H_2 \quad \uparrow\uparrow.$$

Es bilden sich unter Energiezufuhr paramagnetische „Diyl"zustände, *Biradikaletts*, aus. Nehmen wir das klassische Beispiel des Chinons: Hier ist demnach folgendes Gleichgewicht möglich:



Wenn man den Begriff Valenztautomerie im obigen Sinne festlegt, „en" ⇌ „diyl", dann wäre dieses Gleichgewicht: „en" ⇌ „ett", genauer als eine „Valenztautomeroidie" zu bezeichnen. (Damit soll nicht dieses unschöne Wort propagiert werden!)

Für den Grund- und angeregten Zustand der Molekel gelten die Betrachtungen der Mesomerie. Es ist denkbar, daß das Vorliegen einer Mesomerie im Grundzustand unter größerer Beteiligung gewisser „formaler Strukturen" schon eine gewisse Voraussetzung zum erleichterten Übergang „en" ⇌ „ett" schafft, z. B.



Zu einer genaueren Angabe müßte man noch die prozentuale Beteiligung der einzelnen Strukturen am Gesamtzustand kennen.

Man sieht, daß in der Grundfassung des Valenztautomeriebegriffs und in seinen verschiedenen Varianten durchaus ein richtiger Kern steckt. Jeder der an der Erforschung dieses Problems Beteiligten hat in gewisser Weise schon das Richtige gesagt. Das im Laufe der Zeit aber immer verwickelter werdende Problem konnte wegen seiner „*Valenz*"grundlage erst durch Anwendung neuer theoretischer und praktischer Methoden geklärt werden, von Methoden, deren Prinzip wie das der neueren Valenzlehre auf den *Ergebnissen der modernen theoretischen Physik* beruht.

XI. Schluß.

Das Problem des Radikalzustandes — genauer des Radikalettzustandes — ungesättigter Verbindungen ist somit in den Grundlagen, entsprechend dem Stand unserer heutigen Erkenntnis, als geklärt zu betrachten. Die Erforschung des meta-stabilen Zustandes der ungesättigten Stoffe ist eine Angelegenheit weiterer experimenteller und theoretischer Untersuchungen. Aus den bisher bekannten Reaktionen der ungesättigten Verbindungen im angeregten, meta-stabilen Zustand ragen zwei typische Reaktionsweisen hervor, die Polymerisation und die Sauerstoffreaktion. Es sieht so aus, als ob die Triplettmolekeln sich bevorzugt mit *eigenen* oder *anderen Triplett*molekeln verbinden wollten. Bei Anwesenheit von Sauerstoff erfolgt dabei entweder direkt Peroxydbildung, oder die Oxydation kann unter Mithilfe von Zwischenstoffen (Photosensibilisatoren) zu mono- oder polymeren Peroxyden führen. Es liegt nahe und ist sicher wert, experimentell verfolgt zu werden, einen Zusammenhang dieser *Lichtreaktionen* im *metastabilen Zustand* (Polymerisation und Oxydation) im Hinblick auf die Vorgänge bei der Assimilation zu suchen. Auch betreffs der Atmung fällt auf, daß ein paramagnetischer Farbstoff-Eiweiß-Komplex — das Hämoglobin — mit dem paramagnetischen Sauerstoff reagiert. Hier kann infolge des Paramagnetismus der einen Komponente [Blutfarbstoff] (*8*), (*14*) eine unmittelbare Reaktion mit dem Triplett O_2 erfolgen. Auch das Cytochrom c ist nach Untersuchungen von THEORELL paramagnetisch (*95*). Bei der Assimilation hingegen wird die Reaktion des diamagnetischen Farbstoffs bzw. des Farbstoff-Eiweißkomplexes mit $O_2\uparrow\uparrow$ über den Photosensibilisator bzw. den aus ihm durch Lichteinstrahlung erregten Triplettzustand gesteuert. Eine solche Sensibilisierung ist auch beim tierischen Organismus möglich, dann aber der krankhafte Ausnahmefall.

Überblickt man schließlich das Periodensystem der Elemente bezüglich des Auftretens von Paramagnetismus bzw. eines Triplettzustandes als Grundzustand, so sieht man, daß nur der Sauerstoff (S, Se?) von

allen Elementen diese Eigenschaft besitzt, eine Tatsache, die zu weiterem Nachdenken anregen sollte. So schließt diese Betrachtung über den „Radikalzustand ungesättigter Verbindungen" mit einem Blick und Ausblick auf die Sonderstellung des Sauerstoffs im Ablauf des irdischen Geschehens.

Literatur.

1. Bähr, A.: Messung von Biradikalen mittels der p-H_2-Methode. Unveröffentlichte Diplomarbeit. Jena 1941.
2. Bawn, C. E. H. and W. J. Dunning: Chemilumineszenz von Natriumdampf mit organischen Halogeniden. Trans. Faraday Soc. **35**, 185 (1939).
3. Barrow, R. F., T. G. Pearson and R. H. Purcell: Das Auftreten von Methylen bei Kohlenwasserstoffreaktionen. Trans. Faraday Soc. **35**, 880 (1939).
4. Bhatnagar, S. S., P. L. Kapur and Gurnbakch: Polymerisation von Anthracen zu Dianthracen vom magnetischen Standpunkt. Current Sci. **9**, 136 (1940).
5. Bowden, S. T.: Terminologie freier Radikale. Nature (London) **142**, 879 (1938).
6. Clar, E.: Über eine Gesetzmäßigkeit im Aufbau der Absorptionsspektren aromatischer Kohlenwasserstoffe. Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 202 (1933).
7. Coulson, C. A.: Quinodimethan and its diradical. Trans. Faraday Soc. Discussions 1947: The labile molecule, S. 36.
8. Coryell, Ch. D., and F. Stitt: Magnetische Studien über Ferrihämoglobinreaktionen. J. Amer. chem. Soc. **62**, 2942 (1940).
9. Dennison, David M.: A note on the specific heat of the hydrogen molecule. Proc. Roy. Soc. London (A) **115**, 483 (1927).
10. Djatkina, M., u. J. K. Ssyrkin: Biradikale. Fortschr. Chem. (russ.) **16**, 29 (1947).
11. Dufraisse, Ch., u. M. Gerard: Dissoziierende organische Oxyde und Anthracenstruktur. Die Existenz eines Photooxyds des Anthracens; Seine thermische Zersetzung. C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **201**, 428 (1935).
12. —, et G. Sauvage: Labile Sauerstoff-Kohlenstoff-Bindungen bei der Photooxydation von ms-Diphenyl-helianthren. C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **225**, 126 (1947).
13. Dunlop, E. C., B. Williamson, W. H. Rodebush and A. M. Buswell: Ultraviolettabsorptionsspektren der Diphensäuren. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1167 (1941).
14. Eley, D. D.: Die Umwandlung von p-Wasserstoff durch Porphyrinverbindungen, einschließlich Hämoglobin. Trans. Faraday Soc. **36**, 500 (1940).

14a. Harman, R. A., and H. Eyring: The structure of substituted ethylenes and their isomerisation, polymerisation and "peroxide addition reactions". J. chem. Phys. **10**, 557 (1942).

15. Fischer, R.: Über die Photodimerisation des Herniarins (Umbelliferonmethyläther). Arch. Pharmaz. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **279**, 306 (1941).
16. Förster, Th.: Farbe und Konstitution organischer Verbindungen vom Standpunkt der modernen physikalischen Theorie. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **45**, 560 (1939).

17. FÖRSTER, TH.: Quantenmechanische Rechnungen zur Theorie der organischen Farbstoffe. I und II. Z. physik. Chem. Abt. B, **47**, 245 (1940).

18. — Quantenmechanische Rechnungen zur Theorie der organischen Farbstoffe. I und II. Z. physik. Chem. Abt. B **48**, 12 (1940).

19. — Die Lichtabsorption organischer Moleküle und Ionen nach der Quantenmechanik. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **47**, 52 (1941).

20. — Das Fluoreszenzvermögen organischer Farbstoffe. Naturwiss. **33**, 220 (1946).

21. FREED, S., and A. KASPER: A simple accurate method for measuring the diamagnetic susceptibility of dissolved substances. Phys. Rev. **36**, 1002 (1930).

22. GILLAM, A. E., and D. H. HEY: Struktur von Diphenyl, Terphenyl usw. J. chem. Soc. (London) **1939**, 1170.

23. GUTWILL, K.: Hochfrequente Messung magnetischer Suszeptibilitäten. VDE-Fachberichte **10**, 101 (1938).

24. HARTMANN, H.: Angeregte Zustände des Äthylenmoleküls. Z. physik. Chem. Abt. B **53**, 96 (1943).

25. — Modellbetrachtungen zum Problem der Biradikale. Z. Naturforsch. **2a**, H. 11/12 (1947).

26. HÜCKEL, E.: Grundzüge der Theorie ungesättigter und aromatischer Verbindungen. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **43**, 752 (1937).

27. — W.: Theoretische Grundlagen der organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. **1**, S. 355. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1943.

27a. HULBERT, H. M., R. A. HARMAN, A. V. TOBOLSKY and H. EYRING: Rate theory and some physical and chemical properties of high polymers. Annals New York Acad. Sci. **44**, 371 (1943).

28. JONES, R. N.: Einfluß der behinderten Rotation auf die Absorption von arylsubstituierten aromatischen Kohlenwasserstoffen. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1658 (1941).

29. JUSTI, E.: Turbulent wassergekühlte Hochleistungselektromagnete. Physik. Z. **45**, 244 (1944).

30. MARVEL, C. S., J. F. KAPLAN u. CH. M. HIMEL: Alkylsubstituierte Hexaaryläthane. XI. Symmetrie und sterische Effekte als Faktoren bei der Dissoziation. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1892 (1941).

30a. KENYON and SUGDEN: A paramagnetic organic compound. J. chem. Soc. (London) **1932**, 170.

31. KUHN, R., H. KATZ u. W. FRANKE: Über die chemische Konstitution des Porphyrindins; magnetischer Nachweis eines organischen Doppelradikals. Naturwiss. **22**, 808 (1934).

32. LEWIS, G. N., and M. KASHA: Phosphorescence and the triplet state. J. Amer. chem Soc. **66**, 2100 (1944).

33. — — Phosphorescence in fluid media and the reverse process of singlet-triplet absorption. J. Amer. chem. Soc. **67**, 994 (1945).

34. —, and M. CALVIN: Paramagnetism of the phorphorescent state. J. Amer. chem. Soc. **67**, 1232 (1945).

35. LUND, H., u. A. BERG: Pyrenstudien. I. Pyrenyl-diphenylmethanderivate. Kgl. danske Vidensk. Selsk., math.-fysike Medd. **18**, Nr 9, 1 (1941).

35a. MARK, H., and D. JOSEFOWITZ: Some results on vinyl polymerisation in solution. Polymer. Bull. **1**, 140 (1945).

36. MARVEL, C. S., W. H. RIEGER and M. B. MUELLER: Einfluß der Substituenten auf die Dissoziation von Hexaarylăthanen. J. Amer. chem. Soc. **61**, 2769 (1939).

37. — M. B. MUELLER and CH. M. HIMEL: Disproportionierung von Hexa-p-alkylphenyläthanen und der Einfluß von ortho-, meta- und para-Alkylgruppen auf die Dissoziation von Hexaarylăthanen. J. Amer. chem. Soc. **61**, 2771 (1939).

38. —, and CH. M. HIMEL: Hexa-p-alkylphenyläthane. X. p-Cyclohexylderivate des Hexaphenyläthans. J. Amer. chem. Soc. **62**, 1550 (1940).

39. MEERWEIN, H., H. RATHJEN u. H. WERNER: Die Methylierung von RH-Verbindungen mittels Diazomethan unter Mitwirkung des Lichtes. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 1610 (1942).

40. MERKEL, E., u. CH. WIEGAND: Ultraviolettabsorption und Molekülbau von Diphenyl in den drei Aggregatzuständen und von einigen mit ihm verwandten Verbindungen. Z. Naturforsch. **3b**, 93 (1948).

41. MICHAELIS, L., M. P. SCHUBERT and S. GRANIK: Freie Radikale vom Typus der WURSTERschen Salze. J. Amer. chem. Soc. **61**, 1981 (1939).

42. — Magnetische Messungen von Semichinonradikalen in gelöstem Zustand. J. Amer. chem. Soc. **63**, 2446 (1941).

43. MÜLLER, E., u. I. MÜLLER-RODLOFF: Zur Frage der Existenz der Biradikale. Liebigs Ann. Chem. **517**, 134 (1935).

44. — — u. W. BUNGE: Zur Kenntnis des magnetischen Verhaltens freier Radikale. Liebigs Ann. Chem. **520**, 235 (1935).

45. — — Das magnetische Verhalten von Porphyrexid und Porphyrindin. Liebigs Ann. Chem. **521**, 81 (1935).

46. — — Über das Pentaphenylcyclopentadienyl. Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 665 (1936).

47. —, u. W. WIESEMANN: Das magnetische Verhalten von Stickstoffradikalen. Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 2157 (1936).

48. —, u. F. TESCHNER: Die „Metallketyle" der γ-Pyrone. Liebigs Ann. Chem. **525**, 1 (1936).

49. —, u. I. DAMMERAU: Magnetische Untersuchungen von ω,ω-Phenylpolyenen. Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 2561 (1937).

50. — Der Magnetismus, ein modernes Hilfsmittel des organischen Chemikers. Angew. Chem. **51**, 662 (1938).

51. — Magnetische Untersuchungen in: Die Methoden der Fermentforschung von E. BAMANN u. K. MYRBÄCK, S. 628. Leipzig: Georg Thieme 1941.

52. —, u. W. JANKE: Konstitution und magnetisches Verhalten der Metallketyle. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **45**, 380 (1939).

53. —, u. H. NEUHOFF: Ein echtes Kohlenstoffbiradikal mit paraständigen „freien Valenzen". Ber. dtsch. chem. Ges. **72**, 2063 (1939).

54. — Neuere Anschauungen der organischen Chemie, S. 360. Berlin: Springer 1940.

55. —, u. E. TIETZ: Neue echte Kohlenstoffbiradikale mit paraständigen „freien Valenzen". Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 807 (1941).

56. —, u. H. PFANZ: Über biradikaloide Terphenylderivate. Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1051 (1941).

57. — — Über ein biradikaloides Quaterphenylderivat. Ber. dtsch. chem. Ges. **74**, 1075 (1941).

58. MÜLLER, E.: Magnetismus und Konstitution organischer Verbindungen. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **49**, Bericht der Bunsentagung in Frankfurt a. M. (1943).
59. —, u. E. HERTEL: Substitution und Biradikalbildung. Liebigs Ann. **555**, 157 (1944).
60. —, u. A. LANGERBECK: Unveröffentlichte Messungen.
61. —, u. H. POHL: Unveröffentlichte Messungen.
62. NORRIH and PORTER: Structure of methylen. Trans. Faraday Soc., Discussions 1947, The labile molecule, S. 97, 103.
63. PAULING, L.: Nature of the chemical bond, S. 273, 2. Ausg., 6. Druck. New York: Cornell University Press Ithaca 1948.
64. PEARSON, PURCELL and SAIGH: Methylene. J. chem. Soc. (London) **1938**, 409.
65. PICKETT, L. W., S. F. WALTER and H. FRANCE: The ultraviolet absorption spectra of substituted biphenyls. J. Amer. chem. Soc. **58**, 2296 (1936).
66. PRECKEL, R., and P. H. SELWOOD: The dissoziation of hexaphenyldiplumban J. Amer. chem. Soc. **62**, 2765 (1940).
67. PUMMERER, R., H. HAHN, FR. JOHN u. H. KEHLEN: Über den photochemischen Aufbau verzweigter Kohlenstoffketten aus Äther und Formaldehyd. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 867 (1942).
68. RODEBUSH, WORTH H., and ISAAC FELDMANN: Ultraviolet absorptionspectra of organic molecules. III. Mechanical Interference of substituent group with resonance configurations. J. Amer. chem. Soc. **68**, 896 (1946).
69. ROY, M. F., and G. S. MARVEL: Die Dissoziation von Hexa-p-alkylphenyläthanen. J. Amer. chem. Soc. **59**, 2622 (1937).
70. RUMPF, P., et F. TROMBE: Ein neuer Typ eines freien Radikals. Der Paramagnetismus von Tritolylammoniumperchlorat. C. R. hebd. Séances Acad. Sci. **206**, 671 (1938).
71. SCHENCK, G. O.: Zur Theorie der photosensibilisierten Reaktion mit molekularem Sauerstoff. Naturwiss. **35**, 28 (1948).
72. — Phototrop-isomere Diradikale als reagierende Zwischenstoffe photochemischer Reaktionen. Z. Naturforsch. **3b**, 59 (1948).
73. SCHÖNBERG, A.: Autoxydationserscheinungen und Valenztautomerie in der Indenreihe. J. chem. Soc. (London) **1937**, 109.
74. —, and A. MOSTAFA: Photoreactions. Part V. Photo-oxydation of non-ionisable thio-ketones in sunlight. J. chem. Soc. (London) **1943**, 275. —
75. — — Photo-reactions. Part VI. Formation of benzpinacol by the action of aceton on benzhydrol in sunlight. J. chem. Soc. (London) **1943**, 276. —
76. — — Reaktionen von Äthylenen mit 1,2-Diketonen im Sonnenlicht. Nature (London) **153**, 195 (1944).
77. — A. F. A. ISMAIL u. teilweise W. ASKER: Reaktionen von thermochromen Äthylenen. J. chem. Soc. (London) **1946**, 442.
78. —, and A. MOSTAFA: Photochemische Reaktionen im Sonnenlicht. J. chem. Soc. (London) **1947**, 997.
79. SCHWAB, G. M., u. E. AGALLIDIS: Einwirkung von organischen Radikalen auf p-Wasserstoff. Z. physik. Chem. Abt. B **41**, 559 (1938).
80. —, u. N. AGLIARDI: Einwirkung von organischen Radikalen auf p-Wasserstoff. Ber. chem. Ges. **73**, 95 (1940).
81. — E. SCHWAB-AGALLIDIS u. N. AGLIARDI: Einwirkung von freien Radikalen auf p-Wasserstoff. III. Dipyridiniumradikale. Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 279 (1940).

82. SCHWAB, G. M., u. E. SCHWAB-AGALLIDIS: Radikalcharakter und Parawasserstoffumwandlung. Naturwiss. **28**, 412 (1947).

83. — — Anwendung der p-Wasserstoffmethode auf einige organische Konstitutionsfragen. I. Über die Einwirkung freier Radikale auf p-Wasserstoff. V. Mitt. Z. physik. Chem. Abt. B **49**, 196 (1941).

84. SEEL, F.: Quantentheoretische Rechnungen zum Problem des chinoiden Zustandes. Z. physik. Chem. Abt. B **51**, 229 (1942).

85. — Über die Ursache des biradikalischen Verhaltens von Chinontetraaryldimethiden. Definition echter Biradikale. Naturwiss. **33**, 60 (1946).

86. — Lichtabsorption aromatischer Kohlenwasserstoffe. Naturwiss. **34**, 124 (1947).

87. — Zur Theorie der Additions- und Substitutionsreaktionen ungesättigter Kohlenwasserstoffe. Z. Naturforsch. **3a**, 35 (1948).

87a. — Berechnung der tiefsten Singulett- und Triplettzustände des Butadiens, Hexatriens und ihrer Isomeren. Z. Naturforsch. **3a**, H. 3 (1948).

88. — Valenztheoretische Untersuchungen zum Problem der Kohlenstoff-Biradikale. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **52**, 191 (1948).

89. — Privatmitteilung.

90. SELWOOD, P. W., and R. F. PRECKEL: The disproportionation of o-tolyldiphenylmethyl. J. Amer. chem. Soc. **65**, 895 (1943).

91. SHAUGHNESSY, M. T. O., and W. H. RODEBUSH: Ultraviolettabsorptionsspektren organischer Moleküle: Die Abhängigkeit von behinderter Rotation und Resonanz. J. Amer. chem. Soc. **62**, 2906 (1940).

92. SZWARC: Some remarks on the $CH_2=\langle\bigcirc\rangle=CH_2$ molecule. Trans. Faraday Soc. Discussions 1947, The labile molecule, S. 46.

93. THEILACKER, W., u. W. OZEGOWSKI: Über ein p,p'-Diradikal des Diphenyls vom Typ des Triphenylmethyls. Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 40 (1940).

94. — — Über ein p,p'-Diradikal des Diphenyls vom Typ des Triphenylmethyls. II. Mitt. Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 898 (1940).

95. THEORELL, H.: Studies on cytochrome c IV. The magnetic properties of ferric and ferrous cytochrome c. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1820 (1941).

96. TURKEWICH, J., and P. W. SELWOOD: Solid free radicals as catalyst for ortho-para hydrogen conversion. J. Amer. chem. Soc. **63**, 1077 (1941).

97. WALSH, A. D.: Über das CH_2-Radikal. Trans Faraday. Soc. Discussions 1947, The labile molecule, S. 22.

98. WEITZ, E.: Farbänderung und katalytische Wirkung als Folgen der bei der Adsorption an oberflächenaktiven Stoffen eintretenden Polarisation. Z. Elektrochem. angew. physik. Chem. **47**, 70 (1941).

99. —, u. FR. SCHMIDT: Über merichinoide Verbindungen. Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 192 (1942).

100. WHELAND: The theory of resonance. New York 1944.

101. WILLIAMSON, B., u. W. H. RODEBUSH: Die UV-Absorptionsspektren organischer Moleküle. II. Der Einfluß von Substituenten auf die Absorption von Biphenyl. J. Amer. chem. Soc. **63**, 3018 (1941).

102. WITTIG, G., u. H. KRÖHNE: Über die beschleunigte und verzögerte Autoxydation des Tetraphenyl-p-Xylylens. Liebigs Ann. Chem. **529**, 157 (1937).

103. —, u. A. KLEIN: Über ω,ω-Tetraphenyl-polyen-Kohlenwasserstoffe; ein Beitrag zur Valenztautomerie ungesättigter Systeme. Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 2087 (1936).

104. WITTIG, G., u. W. LANGE: Autoxydation des Benzaldehyds in Gegenwart von Dibiphenylenäthylen. Liebigs Ann. Chem. **536**, 266 (1939).

105. —, u. K. HENKEL: Über die Autoxydation des Benzyldehyds in Gegenwart von 9,10-Diphenyl-acenaphthylen. Liebigs Ann. Chem. **542**, 130 (1939).

106. —, u. G. PIEPER: Über gehemmte und beschleunigte Autoxydation des Benzaldehyds in Gegenwart von Dibiphenylen-äthylen. Liebigs Ann. Chem. **546**, 142 (1941).

107. — Valenztautomerie oder Mesomerie bei ω,ω'-Tetraphenyl-polyenen? Liebigs Ann. Chem. **554**, 213 (1943).

108. — Über die Autoxydation des Benzaldehyds und ihre Inhibierung als Kettenreaktion von Peroxydradikalen. Liebigs Ann. Chem. **558**, 201 (1947).

109. —, u. W. GAUSS: Über die verzögerte Autoxydation des Benzaldehyds in Gegenwart von asymmetrischen Diaryl-äthylenen. Chem. Ber. **80**, 363 (1947).

110. ZIEGLER, K., u. L. EWALD: Kettenreaktionen bei der Autoxydation von Radikalen. Liebigs Ann. Chem. **504**, 162 (1933).

(Abgeschlossen im März 1949.)

Prof. Dr. EUGEN MÜLLER, (17a) Eichtersheim bei Wiesloch.