

DE OXYDATIE VAN PHLOROGLUCINOL: EEN STUDIE VAN ENIGE PROBLEMEN DER HUMIFICERING

(THE OXIDATION OF PHLOROGLUCINOL:
A STUDY OF PROBLEMS OF HUMIFICATION)

door/by

H. N. STEIN

(Laboratorium voor Fysische en Kolloïdchemie van de Landbouwhogeschool)

(Ontvangen/Received 23.3.'57)

INHOUD

1. Inleiding	1
2. De kinetiek der oxydatie van phloroglucinol	7
3. Steun voor het veronderstelde mechanisme uit andere gegevens	20
A. Gegevens over de stoichiometrie der beginreactie	20
B. De aanwezigheid van vrije radicalen	23
C. De oxydatie van 2,4-dimethyl-phloroglucinol	26
4. Gegevens over het mengsel van oxydatieproducten, ontstaande bij oxydatie van phloroglucinol	29
5. Scheiding van het mengsel van reactieproducten	37
6. Vergelijking van de in dit onderzoek bereikte resultaten met in de natuur optredende reacties	41
Samenvatting	43
Summary	44
Litteratuur	45

HOOFDSTUK I

INLEIDING

Bij het onderzoek van de onder de naam „humus” bekende donker gekleurde organische bestanddelen van de grond en de daaruit door fractionering ontstane „humuskool”, „huminen”, „fulvozuren”, „hymatomelaanzuren” en „huminezuren” treft men nogal eens resultaten aan, die nauwelijks met elkaar te verenigen zijn. Algemeen is men het erover eens, dat men hier te maken heeft met vrij hoog moleculaire stoffen, ontstaan door chemische en biochemische omzettingen van plantenresten (16, 64, 172, 190). Doch men heeft hier, behalve de moeilijkheid dat de uitgangsstof in de grond van plaats tot plaats verschilt, nog

2049506

de complicerende factor dat de methodes, waarmee men de organische van de anorganische bestanddelen van de grond scheidt, verre van onaanvechtbaar zijn wat betreft instandhouding van de stoffen in dezelfde toestand als waarin zij in de grond voorkomen (21, 22, 23, 173, 181). In landbouwchemische kringen ziet men dit wel in, doch er is nog geen algemeen aanvaarde oplossing voor gevonden (21). Zo is het dan ook niet te verwonderen, dat er een aanzienlijk verschil van mening bestaat b.v. over het moleculairgewicht (7, 64, 72, 166, 167, 194) of over het al dan niet aanwezig zijn van een kristallijne structuur (21, 181).

Ontmoedigd door deze moeilijkheden, heeft men getracht het probleem van de andere kant aan te pakken, d.w.z. een op de in de natuur voorkomende stoffen gelijkende substantie te bereiden uit chemische stoffen, die vermoedelijk ook bij de humusvorming in de grond een rol spelen. Als zodanig beschouwt men uiteraard eiwitten, lignine en cellulose en hun afbraakproducten, resp. aminozuren, phenolische stoffen en suikers (190). Men zou het probleem a.v. kunnen formuleren: is het mogelijk, uitgaande van phenolen of suikers enerzijds en stikstofhoudende stoffen anderzijds (aminen, ammoniak, aminozuren) stoffen te verkrijgen, die gelijkenis vertonen met uit natuurlijke humus te isoleren stoffen?

Indien in dit onderzoek nu de discussie voornamelijk beperkt blijft tot chemische omzettingen, dient men daarbij in het oog te houden dat men niet meer dan een ruw model der in de natuur optredende reacties mag verwachten, waar de rol van micro-organismen bij de humusvorming vaststaat (190). De zuiver chemische kant van deze reacties biedt evenwel ook nog genoeg problemen.

Een eerste stap tot oplossing van het zojuist genoemde probleem, of het mogelijk is humusstoffen synthetisch te bereiden, is de N-houdende stoffen voorlopig buiten beschouwing te laten, en de reacties van phenolen en suikers te onderzoeken. In deze vorm heeft ELLER *c.s.* (37-44) deze vraag voor het eerst systematisch onderzocht, na een tijd waarin men allerlei donker gekleurde, harsachtige stoffen van de naam „humus” voorzag zonder nader onderzoek (190). Zijn conclusie was, dat uit phenolen wel, uit suikers daarentegen niet humusachtige stoffen kunnen ontstaan; als criterium gebruikte hij hierbij elementairanalyses en eigenschappen van halogeen- en nitroderivaten.

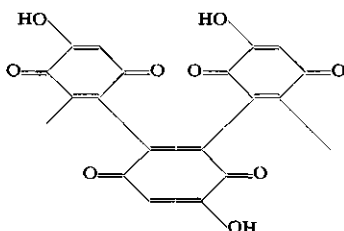
Aldus valt het accent bij het ontstaan van humusstoffen op de lignine. Ten tijde van het verschijnen van het bekende boek van WAKSMAN (190) was dit algemeen aanvaard, temeer daar ook door onderzoek van natuurlijke humus was komen vast te staan, dat het percentage koolhydraten bij humus kleiner, het percentage eiwitten en lignine-achtige stoffen daarentegen hoger was dan bij de meeste plantaardige materialen (190); de aanwezigheid van phenolische hydroxylgroepen naast carboxylgroepen werd b.v. door FUCHS *c.s.* (73, 74) en STADNIKOFF *c.s.* (178) aangetoond. Ook door meer recente onderzoekingen, b.v. van FORSYTH (70, 71), FLAIG en BEUTELSPACHER (64), SCHEFFER en WELTE (168) staat het aromatische karakter van althans het grootste deel der natuurlijke humusstoffen vast. In dit opzicht zijn eveneens van belang de publicaties over afbraak van humusstoffen, waaronder ik de onderzoekingen van FISCHER en SCHRADER (59), BONE *c.s.* (19), SCHMIDT en ATTERER (170), ESH en GUHA-SIRCAR (56), DRAGUNOV *c.s.* (34), ORLOV *c.s.* (136), VAISELBERG (183), BOTTERI (20) en FEUSTEL en BYERS (57) noem; algemeen vindt men een aanzienlijk percentage afbraakproducten, die op de aanwezigheid van aromatische groepen wijzen. Biochemisch hebben FLAIG *c.s.* (65, 110, 62, 67, 68, 69), TRECCANI-

BENETTI en SCHIESSER (182) en POCHON *c.s.* (145, 146) getracht aan te tonen, dat aromatische stoffen precursors of afbraakproducten van huminezuren zijn (zie echter het werk van V. PLOTTO die waarnam, dat phenolen tussenproducten zijn bij de vorming van humusachtige stoffen uit koolhydraten en uronzuren door bacteriën (143, 144)). Op wat meer directe wijze hebben WAKSMAN en IYER (187), MATTSON *c.s.* (120–123), PALLMANN (139) en BENNETT (15) een overeenkomst tussen lignine of omzettingsproducten ervan en humusstoffen geconstateerd. Algemeen had men zich, in navolging van WAKSMAN en SMITH (188) het beeld gevormd dat de vorming van humusstoffen uit lignine a.v. plaatsvond dat eerst de methoxygroepen van de lignine worden gehydrolyseerd, waardoor polyphenolkernen ontstaan, die veel reactiever zijn dan de oorspronkelijke guajacol-, piperonal- en syringine-kernen (9, 21, 32, 77, 107, 118, 131, 175, 176); men kan zich voorstellen, dat dan zowel door oxydatie alleen alsook door oxydatie gecombineerd met inwerking van aminozuren hoger moleculaire stoffen ontstaan (193). Tot deze conclusie kwamen b.v. GOTTLIEB en HENDRIKS (83) en KUKHARENKO en SAVELEV (108, 109) op grond van hun onderzoekingen over katalytische hydrering van lignine- en humuspraeparaten.

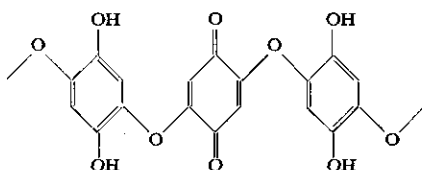
Ondanks deze steun voor de lignine-theorie, waarvan in het kader van dit onderzoek slechts de meest op de voorgrond tredende onderzoekingen genoemd konden worden, vindt de theorie, dat het juist de koolhydraten der plantenresten zouden zijn, die bij de humusvorming een rol spelen, de laatste tijd weer wat aanhangers. De resultaten van ELLER hebben nl. betrekking op koolhydraten als zodanig, die dan bij condensatie producten met van die van de natuurlijke humusstoffen afwijkende eigenschappen zouden geven. ENDERS *c.s.* (45–51) toonde aan, dat men producten van dezelfde brutosamenstelling e.d. als natuurlijke humus krijgt, wanneer men de koolhydraten maar ver genoeg afbreekt, nl. tot methylglyoxaal; als steun kon hij aanvoeren, dat methylglyoxaal in de grond aangetoond kan worden. Hiermee in overeenstemming zijn de resultaten van KONONOVA *c.s.* (100–105), die waarnam dat er vorming van humeuze stoffen in plantenresten optreedt voordat lignine aangetast wordt, en van SCHUFFELEN en BOLT (171) over producten, ontstaan door condensatie van aminozuren met methylglyoxaal.

Een groot aantal onderzoekers heeft daarentegen de lijn van ELLER en WAKSMAN doorgetrokken. Het ligt ook wel voor de hand, dat, waar phenolen in grote hoeveelheid in de grond terechtkomen, de reacties van deze stoffen landbouwchemisch van belang zijn, al is het mogelijk dat naast deze ook koolhydraten aanleiding kunnen geven tot vorming van humeuze stoffen. Belangwekkend is vooral oxydatie onder omstandigheden, zoals men die in de natuur mag verwachten, en wel verdienen daarbij ook die stappen de aandacht, waarbij hogermoleculaire producten ontstaan.

De eerste die ELLER's onderzoek voortzette was ERDTMAN (52–54). Hij bestudeerde vooral de wijze van koppeling van verschillende benzeenkernen tijdens oxydatie van een phenol (buiten aanwezigheid van N-houdende stoffen); in het geval van de alkalische autoxydatie van hydrochinon kwam hij tot de volgende structuur voor het uiteindelijke polymere product:



waarbij de hypothese dat hydroxychinon als tussenproduct optreedt in overeenstemming is b.v. met het werk van REINDERS en DINGEMANS (160). Karakteristiek is hierbij dat ERDTMAN zich de binding tussen opeenvolgende benzeenkernen als C-C-binding voorstelt, naar analogie van de eveneens door hem onderzochte oxydatie van pyrogallol. DIELS en KASSEBART (33) daarentegen en FLAIG *c.s.* (60, 61, 63, 66) komen tot een C-O-C-binding:



Een dergelijke koppeling moge aannemelijk zijn in het geval van hydrochinon, waar als eerste producten verbindingen als chinon en hydroxychinon ontstaan, algemeen hoeft deze koppeling niet te zijn. Integendeel, vaak genoeg treedt bij oxydatie van phenolen een aaneenschakeling van kernen via een C-C-binding op; als tussenproducten bij het vormen van een dergelijke binding kan men zich vrije radicalen denken. Als voorbeeld kan de reeds genoemde oxydatie van pyrogallol genoemd worden (31); ook bij resorcinol, nauw verwant aan het in deze studie onderzochte phloroglucinol, is een dergelijke koppeling waargenomen (85) al is het experimentele materiaal hier nog schaars. Andere voorbeelden noemen b.v. GOLDSCHMIDT en STEIGERWALD (80). Dat uit phenolen door oxydatie vrije radicalen kunnen ontstaan, is door de onderzoeken van PUMMERER *c.s.* (148-159) en GOLDSCHMIDT *c.s.* (78-82) bekend; in enkele gevallen slaagden zij er zelfs in, deze radicalen in oplossing te isoleren. Hier dienen ook de onderzoeken van MUELLER en LEY (132-134) en COOK en WOODWORTH (30) genoemd te worden; ook zij isoleerden een door oxydatie van gesubstitueerd phenol ontstaan radicaal. Dat bij de oxydatie van hydrochinonderivaten of reductie der overeenkomstige chinonen semichinonen ontstaan, die althans gedeeltelijk als radicalen in oplossing aanwezig zijn, bewees MICHAELIS *c.s.* m.b.v. potentiometrische titraties (124, 125) en door metingen der magnetische susceptibiliteit (126-128); kinetische metingen zijn hiermee in overeenstemming (zie het monumentale werk van WEISSBERGER, samengevat (115, 116, 192), en BAXENDALE en HARDY (11, 12)), terwijl BIJL *c.s.* m.b.v. paramagnetische resonantie de aanwezigheid van vrije radicalen kon aantonen, indien men chinhydron uit niet-polaire oplosmiddelen aan basische oppervlakken adsorbeert (28).

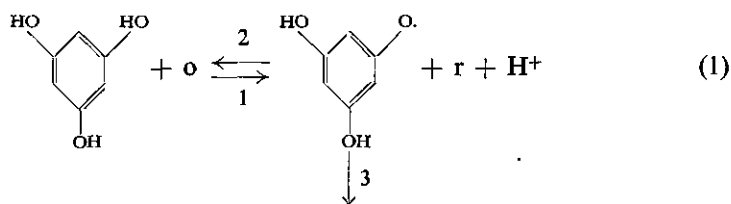
Interessant is in dit verband ook het resultaat verkregen door HEDENBURG en FREISER (84) bij electrochemische oxydatie van phenolderivaten. Opmerkelijk is, dat vrije radicalen niet slechts door reactie van phenolen met andere radicalen, doch ook door reactie met stoffen als $\text{Fe}(\text{CN})_6^{---}$ kunnen ontstaan.

Het voorgaande moge voldoende zijn om toe te lichten, dat het ontstaan van

hogermoleculaire producten door oxydatie van phenolen zowel landbouwchemisch belangwekkend alsook chemisch nog problematisch is in sommige opzichten; het is niet doenlijk hier een overzicht te geven van alle onderzoeken, in de loop der jaren aan oxydatie van phenolen gewijd. Vooral die phenolen hebben de aandacht getrokken, waarbij men een redelijke mate van zekerheid had omtrent de aard der eerste oxydatieproducten, zoals hydrochinon, pyrocatechol, pyrogallol en derivaten. Zeer veel minder aandacht is daarentegen aan de meta-polyphenolen besteed, hoewel juist hier, door het ontbreken van de mogelijkheid van vorming van een chinon, het reducerende karakter opmerkelijk is.

Van phloroglucinol b.v. is reeds vanaf de tijd van zijn ontdekking bekend (91, 92, 75, 196, 198) dat het gemakkelijk geoxydeerd kan worden, alsook dat bij deze oxydatie niet alleen lager moleculaire stoffen als oxaalzuur (91, 169) doch ook amorphe, „moderartige” stoffen kunnen ontstaan (91); ook het ontstaan van een stof $C_{18}H_{11}O_7N$ is waargenomen bij oxydatie met HNO_3 (14). ELLER kon daarentegen slechts onder vrij rigoureuze omstandigheden of in aanwezigheid van ammoniak „huminezuren” uit phloroglucinol verkrijgen (40).

Hoe nu deze oxydatie precies verloopt, bleef onopgehelderd. Een groot aantal onderzoeken, aan de oxydatie van phloroglucinol besteed, bleef beperkt tot het constateren van een reactiesnelheid (18, 130, 94) of het totaal aantal oxydatietrappen (140, 195) zonder nader in te gaan op het mechanisme. Ook onderzoeken over electrochemische oxydatie (2) en reductie na autoxydatie (24, 184, 185) leverden slechts resultaten, die hetzij negatief hetzij niet gemakkelijk interpreteerbaar waren in termen van een reactiemechanisme. WIELAND en FRANKE (197) betrokken phloroglucinol in hun onderzoeken over het mechanisme der oxydaties m.b.v. $Fe^{++} + H_2O_2$; zij stelden hierbij een complex tussen Fe^{++} en phloroglucinol aansprakelijk voor de door hen waargenomen „primäre Oxydationsstoss”, doch gingen niet verder in op de lotgevallen van het phloroglucinol. FIESER (58) betrok ook het product van de eerste oxydatietrap in zijn beschouwingen, doordat hij deze trap aldus schreef:



waarbij: o = oxydans

r = door reductie van het oxydans ontstane stof = o + electron

De experimentele fundering van deze formulering was echter niet volledig: noch de aanwezigheid van vrije radicalen, noch het reversibele karakter der eerste oxydatietrap werden overtuigend aangetoond (zie pag. 7 e.v.).

Nog een gegeven over de oxydatie van phloroglucinol verdient vermelding: er ontstaan producten bij, die met aminozuren kunnen reageren; een katalyse van de oxydatieve desaminering der aminozuren door phloroglucinol is althans waargenomen (18, 98) (zie echter (96)), evenals een beïnvloeding van de oxydatie door zuurstof in aanwezigheid van tyrosinase, door toevoegen van aniline (165).

Onze aandacht werd op het geval van phloroglucinol gevestigd doordat het

als irreversibel geoxydeerd phenol in zekere zin als een model voor landbouw-chemische processen kan dienen. Van de gebruikelijke modelstoffen als hydrochinon onderscheidt phloroglucinol zich in zoverre, dat er niet gemakkelijk chinonen uit kunnen ontstaan door oxydatie; het verdient aanbeveling de mogelijkheid ook van dergelijke oxydaties bij de vorming van humusachtige stoffen te overwegen, daar het niet vaststaat dat b.v. vanilline-, guajacol- en syringine-derivaten steeds via een hydrochinon-derivaat als tussenproduct geoxydeerd worden. Phloroglucinol komt verder veelvuldig in planten voor, speciaal in de vorm van derivaten (97) en biochemisch kan het in humusstoffen omgezet worden (182). Dat trouwens ook chemische oxydatie in aanwezigheid van aminozuren tot het ontstaan van een product leidt, waar stikstof in is opgenomen, wordt door de volgende oriënterende proeven aangetoond:

A. 0,10 g phloroglucinol werd, samen met 0,660 g l-asparagine, opgelost in 100 ml buffer (NaH_2PO_4 0,0050 M + Na_2HPO_4 0,0050 M). Nadat het mengsel gedurende 5 dagen in de lucht was blijven staan, werd het absorptiespectrum opgenomen m.b.v. een BECKMAN-DU spectrophotometer. Dit is weergegeven in figuur 1, samen met dat van een aantal blanco-proeven, waarbij één der reagentia was weggelaten, hetzij asparagine, hetzij phloroglucinol, hetzij zuurstof. Om vorming van schimmels tegen te gaan, werd wat HgJ_2 aan de reactiemengsels toegevoegd.

Bij tryptophaan werd een analoge reactie waargenomen, echter minder overtuigend.

B. Bij een andere proef vond de oxydatie door $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ plaats. Bij dezelfde concentraties als bij proef A. werd bovendien nog 1,00 g $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ per 100 ml gevoegd. Het oxydatieproduct werd geïsoleerd door aanzuren met 1 ml 4 N H_2SO_4 en 4 maal extraheren met telkens 10 ml iso-amylalcohol. Op het residu, dat bij droogdampen der iso-amylalcohol-oplossing achterbleef, werd een stikstofreactie volgens LASSAIGNE (76) uitgevoerd. Waren in de oplossing phloroglucinol en asparagine samen aanwezig, dan was de reactie positief; asparagine alleen was negatief. Een positieve reactie bij aanwezigheid van phloroglucinol + aminozuur en negatieve reactie bij aanwezigheid van aminozuur alleen werd ook verkregen, als i.p.v. 0,660 g asparagine 0,200 g tryptophaan genomen werd. Met glycine, proline en lysine als aminozuren was de reactie echter altijd negatief, ook als er phloroglucinol aan het mengsel was toegevoegd.

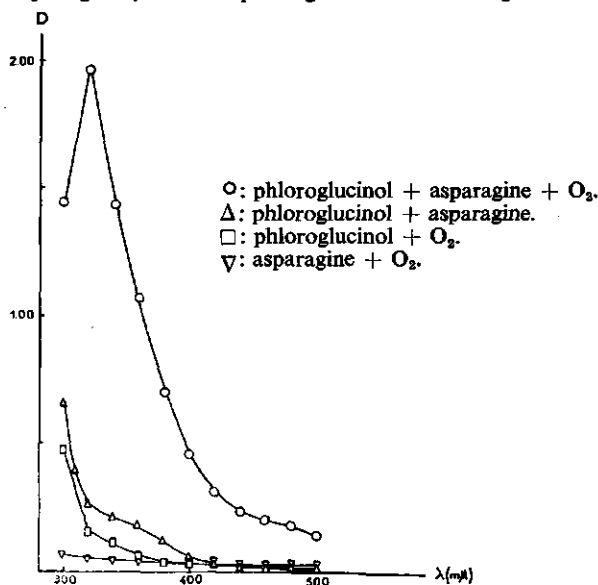


FIG. 1. Absorptiespectrum van een oplossing, ontstaan door autoxydatie van phloroglucinol in aanwezigheid van l-asparagine, samen met blanco-proeven.

Behalve de landbouwchemische kant van de oxydatie van phloroglucinol ligt hier ook nog een zuiver chemisch probleem, daar de gemakkelijke oxydeerbaarheid van phloroglucinol niet licht te verklaren is op grond van zijn structuur.

Als uitgangspunt bij dit onderzoek werd FIESER's theorie genomen; onderzocht werd, of het niet mogelijk was voor zijn alleszins plausible hypothese een beter experimenteel fundament te vinden (hoofdstuk 2 en 3). Voorts werd onderzocht, of er bij deze oxydatie onder milde omstandigheden (neutrale waterige oplossing, $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ als oxydant) hoger moleculaire producten ontstaan (hoofdstuk 4), terwijl tevens een poging werd gedaan iets te weten te komen over het aantal componenten, dat bij deze oxydatie ontstaat, en de mogelijkheden tot scheiding daarvan (hoofdstuk 5). In hoofdstuk 6 zullen de resultaten van dit onderzoek in landbouwchemisch verband beschouwd worden.

HOOFDSTUK II

DE KINETIEK DER OXYDATIE VAN PHLOROGLUCINOL

De eerste vraag, die bij de studie der oxydatie van phloroglucinol beantwoord diende te worden, was, of er al dan niet vrije radicalen een rol bij spelen. Zoals in het voorgaande reeds vermeld is, werd een dergelijke veronderstelling door FIESER ten grondslag gelegd aan zijn interpretatie van metingen der oxydatiesnelheid („critische oxydatiepotentiaal”) (58). Als steun voor zijn interpretatie voerde hij aan, dat $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ een vertragende invloed uitoefent op de oxydatie door $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$; zijn metingen konden worden weergegeven door

$$\frac{o_0 - o_t}{o_t} = e + f \cdot E \quad (2)$$

met $o_0 = [\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$ op tijd 0,

$o_t = [\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}]$ op tijd t ; t is het tijdstip, waarop de proef beëindigd werd; is van te voren willekeurig te kiezen, maar daarna voor een groep waarnemingen constant te houden, bij FIESER b.v. 5 minuten;

E = redoxpotentiaal der oplossing;

e en f zijn constanten.

Deze formule was empirisch gevonden, zij gold voor $o + r = c$ (constant). Toch volgt hieruit nog niet, dat de metingen der reactiesnelheid in overeenstemming zijn met schema (1) op pag. 5. Immers, schrijft men formule (2) iets anders om verband te kunnen zien met in kinetische beschouwingen gebruikelijker grootheden, dan zou men b.v. kunnen schrijven:

$$-\frac{1}{o_t} \int_0^t \frac{do}{dt} dt = e' + f' \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{o}{r} \quad (3)$$

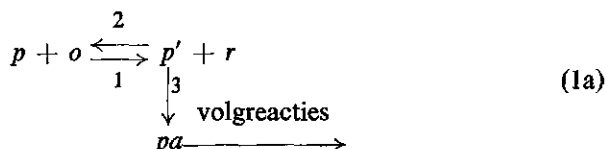
Laat men nu t tot 0 naderen, dan wordt:

$$-\frac{1}{o} \left(\frac{do}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} \cdot t = e' + f' \cdot \frac{RT}{F} \ln \frac{c-r}{r} \quad (4)$$

$$-\left(\frac{d \ln o}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} \cdot t = e' + f' \cdot \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{c}{r} - 1 \right) \quad (5)$$

Wil men daarentegen op grond van schema (1) een vergelijking voor de reactiesnelheid opstellen, dan komt men tot geheel andere formules. Allereerst dient men er dan voor te zorgen, dat volgens het schema niet alleen het ontstaan, maar ook het verdwijnen van radicalen beschreven wordt, m.a.w. men moet veronderstellingen invoeren omtrent reactie 3, of ook over reacties volgend op reactie 3.

Hierbij is het niet mogelijk om alle mogelijkheden, die zich kunnen voordoen, in het oog te vatten; door het ontbreken van experimentele gegevens blijft het een tasten in het duister. Veronderstelt men in het schema



reactie 3 snelheidsbepalend, dan is algemeen gesproken slechts het aantal opvolgende oxydatiestappen van belang, niet hun aard; men krijgt:

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{totaal}} = -n \cdot \left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} \quad n = \text{totaal aantal oxydatietrappen}$$

De vrije radicalen, die bij deze reactie zouden ontstaan, hoeven niet door combinatie met andere radicalen te verdwijnen; immers, doordat zowel ferro- alsook ferricyanide stabiele stoffen zijn, geen radicalen, en toch één electron kunnen opnemen resp. afstaan, kan een radicaal door reactie met deze ionen zijn radicaalkarakter verliezen zonder dat er een ander radicaal voor in de plaats komt.

Welke vergelijking we uiteindelijk voor de reactiesnelheid uit schema (1a) afleiden, hangt van de aard van reactie 3 af. Is deze (pseudo) monomoleculair, dan krijgt men:

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{k_3 \cdot k_1 \cdot p \cdot o}{k_2 r + k_3} \quad (6)$$

do/dt is dus een lineaire functie zowel van o alsook van p .¹

De afleiding van deze formule gaat langs de gebruikelijke weg:

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = k_1 \cdot p \cdot o - k_2 \cdot p' \cdot r$$

De concentratie van het tussenproduct wordt constant verondersteld (hypothese van de stationnaire toestand):

$$\frac{dp'}{dt} = k_1 \cdot p \cdot o - k_2 \cdot p' \cdot r - k_3 \cdot p' = 0$$

Elimineert men p' uit deze twee vergelijkingen, dan krijgt men:

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{k_3 \cdot k_1 \cdot p \cdot o}{k_2 \cdot r + k_3}$$

¹ Met de letters o , p en r worden niet alleen stoffen (resp. oxydans, phloroglucinol, en gereduceerde vorm van het oxydans) aangeduid, maar ook hun concentraties.

Is reactie 3 een reactie met p , dan krijgt men op overeenkomstige wijze

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{k_3 \cdot k_1 \cdot p^2 \cdot o}{k_2 \cdot r + k_3 \cdot p} \quad (7)$$

$-do/dt$ wordt, bij $p \rightarrow 0$, een kwadratische functie van p ; bij hogere p nadert de functie asymptotisch tot de lijn

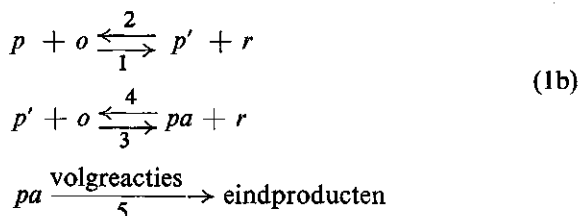
$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = k_1 \cdot p \cdot o \quad (7a)$$

Is zowel monomoleculaire reactie van p' alsook reactie ervan met onomgezet p mogelijk, dan krijgt men analoog

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{(k_3 + k_4 \cdot p) \cdot k_1 \cdot p \cdot o}{k_2 r + k_3 + k_4 \cdot p} \quad (7b)$$

Reactie 3 is de monomoleculaire reactie, reactie 4 die met p .

Mocht reactie 3 een verdergaande reversibele oxydatie zijn, gevolgd door een monomoleculaire volgreactie, zodat ons schema wordt



dan krijgt men

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{2 k_1 k_3 k_5 \cdot p \cdot o^2}{k_2 r (k_5 + k_4 r) + k_3 k_5 o} \quad (8)$$

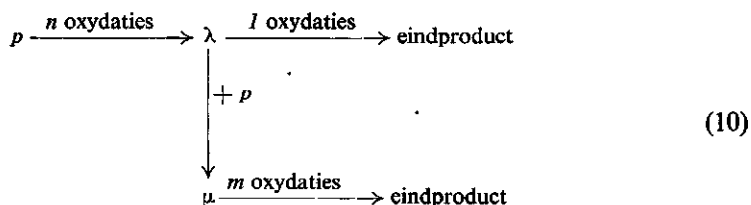
Is reactie 3 een irreversibele oxydatie, dan verwacht men

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = \frac{k_3 k_1 p o^2}{k_2 r + k_3 o} \quad (9)$$

Bij deze formules dient opgemerkt te worden, dat zij afgeleid zijn m.b.v. de in kinetische beschouwingen gebruikelijke hypothese van de stationnaire toestand: de concentraties der tussenproducten worden constant verondersteld. Uit de proeven, vermeld in hoofdstuk 3a (fig. 11 en 12, pag. 22), volgt echter dat de aard der reactie na een paar minuten verandert; men kan zich afvragen of dan de zojuist genoemde hypothese nog verantwoord is. Nu beperken we ons in dit hoofdstuk ook al om meer praktische redenen (zie pag. 13) tot de reactie vlak na menging der reagentia; hierbij wordt de invloed van de veranderingen in karakter der reactie verwaarloosbaar verondersteld. Dit houdt natuurlijk een benadering in, die echter noodzakelijk is; de differentiaalvergelijkingen voor de reactiesnelheid worden voor een niet-(quasi)-stationnair systeem zeer veel moeilijker hanteerbaar.

Verder dient opgemerkt te worden, dat schema (1) eigenlijk ook invloed der waterstofionen-concentratie op de reactiesnelheid eist. Ter vereenvoudiging van de formules wordt deze echter constant verondersteld, hetgeen inhoudt dat het systeem volledig gebufferd verondersteld wordt.

Boven werd opgemerkt, dat de hypothese, dat de eerste oxydatietrap snelheidsbepalend is, met zich meebrengt, dat slechts het aantal, niet de aard der volgreacties van invloed is op de kinetiek. Dit is slechts juist, zolang er geen vertakkingen optreden, zoals b.v. in het schema



λ en μ zijn hierbij tussenproducten; λ kan zowel direct verder geoxydeerd worden alsook na eerst met een molecule onomgezet phloroglucinol gereageerd te hebben. De series van n , l en m oxydaties worden verondersteld geen vertakkingen meer te bevatten. Men krijgt dan

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{totaal}} = -\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} \cdot (n + l + (m - l) \cdot f(p)) \quad (11)$$

Hierbij is $f(p)$ een functie van de reactiesnelheidsconstanten rond de tussenproducten λ en μ en van de concentratie p ; bovendien kan $f(p)$ nog afhankelijk zijn van de concentraties o en r , als de reacties rondom λ en μ oxydaties zijn. Steeds is $\lim f = 0$ als p tot 0 nadert, en $\lim f = 1$ als p tot oneindig nadert. Hoe het verloop van $-do/dt$ als functie van p zal zijn, hangt nu dus ook van de waarden van l en m af.

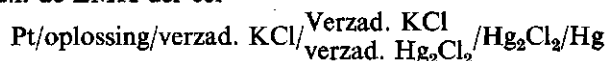
Vergelijken we nu de op grond van het veronderstelde schema afgeleide vergelijkingen met het door FIESER empirisch gevonden verband (formule 5) dan blijkt de enige overeenkomst te zijn dat in beide gevallen de aanwezigheid van $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ vertragend werkt op de oxydatie. Uit een dergelijke vertraging volgt echter slechts, dat een oxydatietrap reversibel is. Onbewezen liggen voorts nog in FIESER's theorie de volgende veronderstellingen opgesloten:

1. Aan deze reversibele trap nemen 1 mol phloroglucinol, 1 aeq o en 1 aeq r deel;
2. De reversibele trap is de eerste oxydatietrap;
3. Het oxydatieproduct van phloroglucinol, dat door $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ gereduceerd wordt, is een vrij radicaal en niet b.v. een chinon.

Van deze hypothesen is slechts de eerste voor controle door kinetische metingen toegankelijk, zodat de discussie in dit hoofdstuk daartoe beperkt moet blijven.

EXPERIMENTEEL GEDEELTE

De reactiesnelheid werd gemeten met behulp van de redoxpotentiaal der oplossing, d.i. de EMK der cel



Deze EMK levert ons het quotient o/r ; daar $o + r$ constant en bekend is tijdens een reactie, heeft men hierin een continue meting van o en r . Verondersteld wordt dus, dat het systeem $\text{Fe(CN)}_6^{4-}/\text{Fe(CN)}_6^{3-}$ potentiaalbepalend is; voor experimentele gegevens hierover zie beneden.

De EMK werd gemeten m.b.v. een CAMBRIDGE potentiometer (BP 396817); alle metingen vonden plaats bij $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$, terwijl tegelijkertijd een stikstofstroom door de oplossing werd geleid. Geroerd werd tijdens de reacties m.b.v. een magnetische roerinstallatie (STIROMATIC). Een tekening der opstelling is te vinden in (180). De apparatuur werd voor de metingen op de proef gesteld door de potentiaal van een verzadigde chinhydron-oplossing bij een $\text{pH} = 3.57$ te meten (KH-tartraat-buffer); de potentiaal dient dan $+ 244 \text{ mV}$ te zijn.

Onderzocht werd tevens, of er afwijkingen optraden van de wet van NERNST; dit was temeer noodzakelijk, daar volgens (17) en (186) sommige ionen hun potentiaalbepalende eigenschappen bij een concentratie 10^{-5} M verliezen, terwijl in dit onderzoek de concentratie van Fe(CN)_6^{4-} in sommige gevallen tot $0,3 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ daalde. Het resultaat van een dergelijke ijkproef is weergegeven in figuur 2:

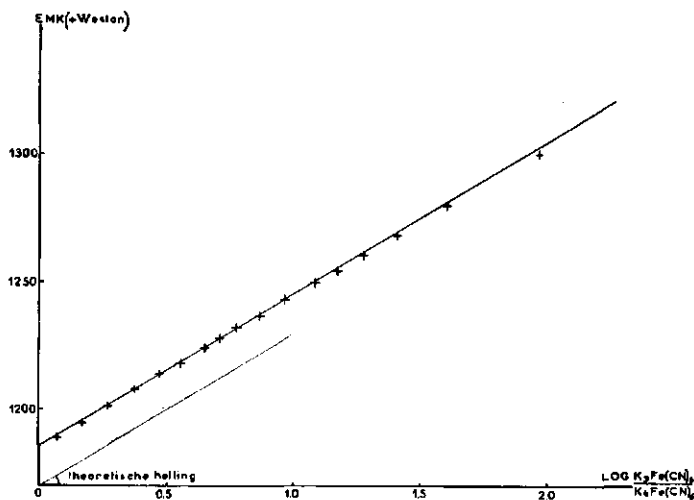


FIG. 2. Voorbeeld van een ijkcurve voor de EMK-meting.

Nader onderzocht diende tevens nog, of de potentiaal ook beïnvloed zou worden door de oxydatieproducten. Gecontroleerd werd dit door van een oplossing, ontstaan door phloroglucinol in overmaat $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ te oxyderen, enerzijds de redoxpotentiaal te meten, anderzijds het gehalte aan Fe(CN)_6^{4-} te bepalen door potentiometrische titratie met TiCl_3 ; deze titratie kon uiteraard pas plaatsvinden nadat de oplossing was aangezuurd. De gemeten potentiaal bleek $1,5 \text{ mV}$ af te wijken van de waarde, die m.b.v. het uit de titraties bekende quotient o/r uit de ijkcurve berekend werd, d.w.z. de overeenstemming was zo goed als verwacht mocht worden op grond van de onnauwkeurigheden in de potentiaalmeting en de titraties. Ook was er geen merkbaar verschil tussen de E_0 -waarden bij de potentiometrische titraties t.g.v. de aanwezigheid van organische stoffen.

De snelheid der potentiaalinstelling was, zoals uit een blancoproef (toevoegen van $K_4Fe(CN)_6$ aan een oplossing van $K_3Fe(CN)_6 + K_4Fe(CN)_6$) bleek, zeer groot, mits de electrode voldoende schoon was.

Chemicalien:

Phloroglucinol: een product van BROCADES & STHEEMAN. Volgens de reacties vermeld in (6), bepaling van het kristalwatergehalte en smeltpunt waren er geen aantoonbare hoeveelheden verontreinigingen in te vinden.

$K_3Fe(CN)_6$: handelsproduct, omgekristalliseerd uit water.

$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3 H_2O$: BROCADES & STHEEMAN, puriss.

N_2 : handelsproduct, gezuiverd door te leiden door twee wasflessen met alkalische pyrogallol-oplossing.

$NaH_2PO_4 \cdot 2 H_2O$: ANALAR.

Na_2HPO_4 . anh.: pro analysi (UNION CHIMIQUE BELGE).

Buffer-oplossing: 0,034 M $NaH_2PO_4 + 0,051$ M Na_2HPO_4 (pH = 6,94).

Experimentele procedure:

Aan 100 ml buffer-oplossing werden 10 ml $K_3Fe(CN)_6$ -oplossing in buffer toegevoegd; gedurende een paar minuten werd N_2 doorgeleid. Vervolgens werden 10 ml $K_4Fe(CN)_6$ -oplossing in water toegevoegd, en er werd gewacht totdat temperatuurevenwicht en een constante redoxpotentiaal waren bereikt.

Daarna werden 10 ml phloroglucinol-oplossing in buffer toegevoegd m.b.v. een pipet met uitlooptijd = 5 sec.; om temperatuurveranderingen tijdens het toevoegen te vermijden, was de phloroglucinol-oplossing van te voren op 25 °C gebracht. De redoxpotentiaal werd nu als functie van de tijd genoteerd.

RESULTATEN

A. Algemene vorm der potentiaal-tijd-curve

De redoxpotentiaal neemt af, als de reactie plaatsvindt. Algemeen had de curve een vorm als in fig. 3 weergegeven.

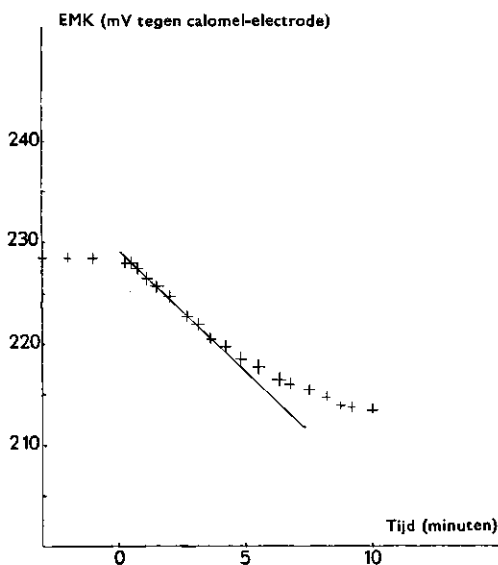


FIG 3. Algemene vorm der potentiaal-tijd-curve

Na een korte periode, gedurende welke de metingen wat gestoord waren t.g.v. onvoldoende menging der oplossingen, volgde een in eerste benadering lineair afnemen van de potentiaal. Indien we de vergelijking beschouwen, die op grond van het veronderstelde schema (1) voor de oxydatiesnelheid afgeleid kan worden dan is dit enigszins begrijpelijk:

De geïntegreerde vorm van de genoemde vergelijking is, indien we, vooruitlopend op de resultaten van de kinetische experimenten, veronderstellen dat zowel oxydatie van p' alsook monomoleculaire reactie kan plaatsvinden: (formule 22)

$$t = -A \ln \left(1 - \vartheta \cdot \frac{\Delta o}{p_o} \right) - B \ln \left(1 - \frac{\Delta o}{o_o} \right) - C \ln \left(1 - \frac{k_4 \cdot \Delta o}{k_3 + k_4 \Delta o} \right) \quad (12)$$

p_o = concentratie van phloroglucinol bij het begin der reactie;

o_o = idem van het oxydans

Δo = verbruikt aantal gaeq $\text{Fe}(\text{CN})_6^{--}$ in tijd t ;

ϑ = aantal gmol phloroglucinol, door één gaeq $\text{Fe}(\text{CN})_6^{--}$ geoxydeerd.

In het begin der reactie zullen $\vartheta \cdot \frac{\Delta o}{p_o}$ en $\frac{\Delta o}{o_o}$ klein zijn t.o.v. 1, dus kan men schrijven:

$$t = A \cdot \vartheta \cdot \frac{\Delta o}{p_o} + B \cdot \frac{\Delta o}{o_o} + C \cdot \frac{k_4 \Delta o}{k_3 + k_4 \Delta o} \quad (13)$$

Zolang de toegepaste benadering dus opgaat, krijgt men een lineair verloop van Δo met de tijd. Bij ongeveer 17% omzetting is de afwijking van de rechte evenredigheid van Δo met de tijd 10%.

Op dezelfde manier kan men ook uitrekenen, in hoeverre een dergelijk verloop een rechte lijn in de E - t -grafiek levert. Immers:

$$E = E_o + \frac{RT}{F} \ln \frac{o}{r} = E_o' + \frac{RT}{F} \ln \left(1 - \frac{\Delta o}{o_o} \right) - \frac{RT}{F} \ln \left(1 + \frac{\Delta o}{r_o} \right) \quad (14)$$

waaruit weer volgt, dat de lijn met een benadering van 10% als recht te beschouwen is, zolang Δo niet meer dan ongeveer 20% van r_o of o_o is.

Na een paar minuten verliep de reactie echter langzamer, tevens is de reactiesnelheid dan minder goed reproduceerbaar. Ook in ander opzicht krijgt men te maken met slechte reproduceerbaarheid der gegevens bij deze reactie, zodra men gaat letten op reacties, volgende op de reactie vlak na menging der reagentia; deze laatste daarentegen is goed reproduceerbaar. Beperken we nu de discussie tot deze eerste oxydatie, dan betekent dit dat we van de potentiaal-tijd-curven slechts

$$\lim_{t \rightarrow 0} \frac{dE}{dt}$$

bespreken. Deze grootte werd uit de potentiaal-tijd-curven grafisch afgelezen; $(do/dt)_{t \rightarrow 0}$ werd hieruit berekend m.b.v. de formule

$$\frac{do}{dt} = \frac{F}{R \cdot T} \cdot \frac{o \cdot r}{o + r} \cdot \frac{dE}{dt} \quad (15)$$

die gemakkelijk af te leiden is door differentiëren van de wet van NERNST:

Uit $E = E_o + \frac{RT}{F} \ln \frac{o}{r}$ volgt door differentiëren naar de tijd t :

$$\frac{dE}{dt} = \frac{RT}{F} \cdot \frac{r}{o} \left(-\frac{o}{r^2} \frac{dr}{dt} + \frac{1}{r} \frac{do}{dt} \right) \quad (16)$$

Nu is $o + r$ constant tijdens een reactie, dus:

$$\frac{dr}{dt} = - \frac{do}{dt} \quad (17)$$

Vult men dit in, dan krijgt men:

$$\frac{dE}{dt} = \frac{RT}{F} \left(\frac{1}{r} + \frac{1}{o} \right) \frac{do}{dt} \quad (18)$$

waaruit:

$$\frac{do}{dt} = \frac{F}{R.T} \frac{o.r}{o+r} \frac{dE}{dt}$$

In enkele gevallen werden uit de waargenomen $E(t)$ -waarden eerst telkens de bijbehorende $o(t)$ -waarden berekend m.b.v. een ijkcurve als b.v. figuur 2, waarna $(do/dt)_{t \rightarrow o}$ rechtstreeks uit de $o(t)$ -grafiek werd afgelezen.

B. Invloed van veranderingen in $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$

Verhoogt men de concentratie van $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ bij het begin der reactie, dan wordt, zoals reeds door FIESER was waargenomen, de reactie vertraagd. De in dit onderzoek verkregen waarnemingen zijn samengevat in de figuren 4 en 5:

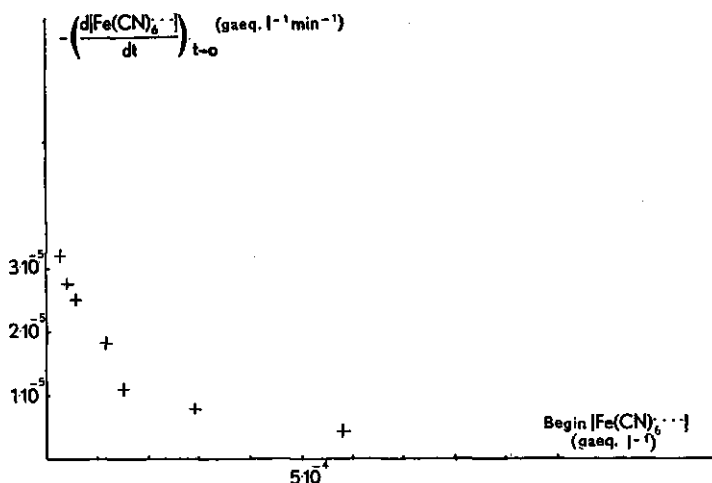
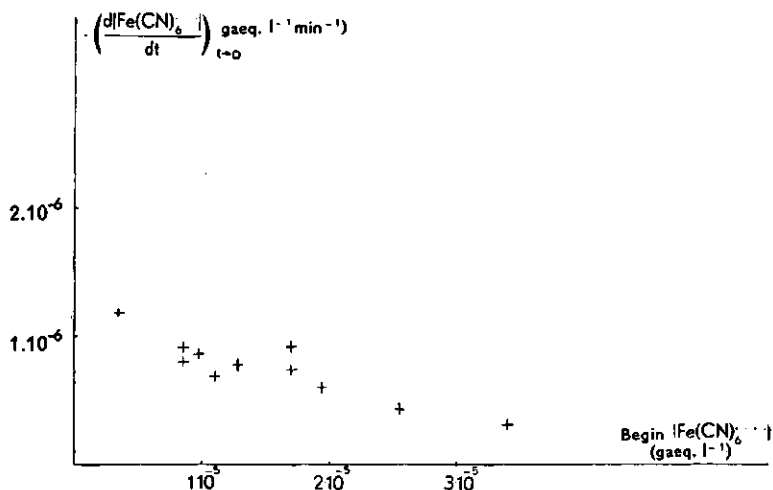


FIG. 4. Invloed van veranderingen in r op de reactiesnelheid

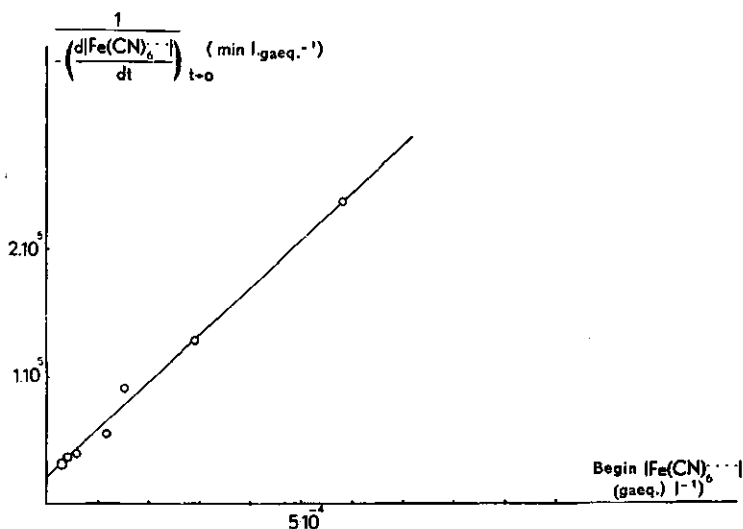
Begin-concentraties: $o = 1,16 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

$p = 0,90 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

Om na te gaan, of deze resultaten in overeenstemming zijn met schema (1) op pag. 5 en, zo ja, op welk karakter der reactie 3 de kinetiek wijst, werd $1/(do/dt)$ uitgezet tegen r ; de vergelijkingen 6, 7 en 9, overeenkomende met een (pseudo) monomoleculaire reactie, een reactie met p en een irreversibele reactie met o resp. voor reactie 3 eisen dan een lineair verloop terwijl een reversibele oxydatie (schema 1b, verg. (8)) daarmee niet in overeenstemming is.

FIG. 5. Invloed van veranderingen in r op de reactiesnelheidBegin-concentraties: $\sigma = 1,36 \cdot 10^{-4}$ M $p = 1,60 \cdot 10^{-4}$ M

Het lineaire verloop, dat vooral in fig. 6 duidelijk zichtbaar is, sluit deze laatste mogelijkheid uit, tenzij $k_5 \gg k_4 r$; dan klopt echter de afhankelijkheid van σ niet (zie pag. 17). In figuur 7 is de spreiding in de waarnemingen groter; in het bijzonder bij grote r , waar de reactie langzaam is, krijgt men een grote onnauwkeurigheid, die nog wordt vergroot doordat de absolute waarde van de in figuur 7 vermelde reciproke waarden ervan juist erg groot is. De vertraging

FIG. 6. $\frac{1}{\left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{t=0}}$ -waarden der proeven, vermeld in fig. 4, uitgezet tegen r

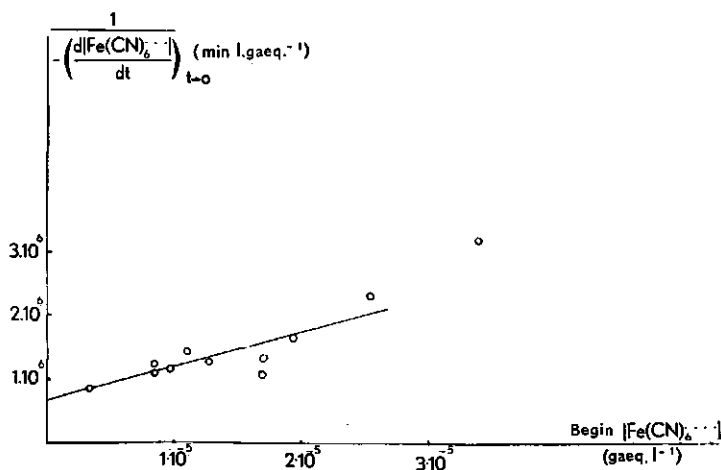


FIG. 7. $\frac{1}{\left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}}$ -waarden uit figuur 5, uitgezet tegen r

der reactie door toevoegen van Fe(CN)_6^{4-} is ook hier echter althans niet in strijd met een rechtlijnig verloop.

De afgesneden stukken van de rechte lijnen in de figuren 6 en 7 verhouden zich ongeveer als 1:30, terwijl de vergelijkingen (6), (7) en (9) hiervoor 1:48 eisen; een mogelijke verklaring voor de wat tragere reactie bij hoge p is in schema (10) (pag. 10) te vinden (zie pag. 17).

Opmerkelijk is verder, dat de verhouding der hellingen van de lijnen ongeveer 1:145 is; deze verhouding ligt in tussen hetgeen de vergelijkingen (6) en (7) eisen (1:48 en 1:270 resp.). Dit kan men verklaren door te veronderstellen, dat zowel monomoleculaire afbraak van p' alsook reactie ervan met p kan optreden (vergelijking 7b op pag. 9). Analooch kan men ook veronderstellen, dat er zowel monomoleculaire afbraak van p' alsook irreversibele oxydatie plaatsvindt: verg. 9 eist voor het quotiënt der hellingen 1:410. Desnoods zou men het gevonden quotiënt kunnen verklaren m.b.v. het mechanisme van verg. (7): bij hogere p vindt men, zoals reeds opgemerkt, een langzamer reactie dan de theorie laat verwachten.

C. Invloed van veranderingen in p op de reactiesnelheid

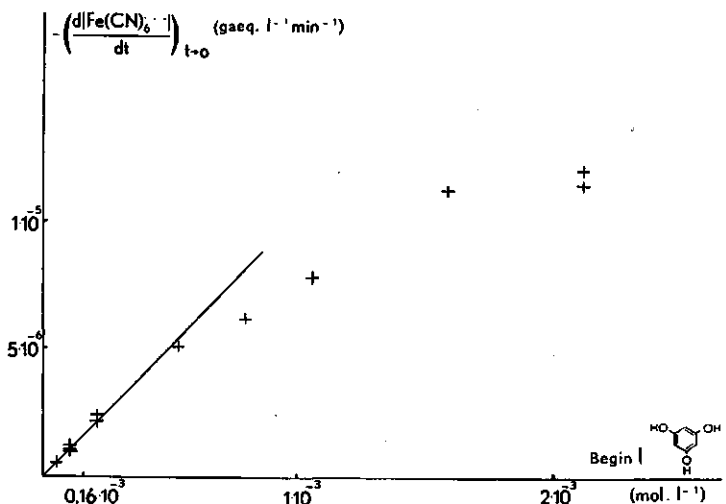
De proeven hierover zijn samengevat in figuur 8.

Onder de condities van figuur 5 en 7, d.w.z. bij een phloroglucinol-concentratie $= 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, bestaat er een lineair verband tussen de reactiesnelheid en de phloroglucinol-concentratie. Dit is in overeenstemming met de mechanismen van verg. 6 en 9, sluit echter verg. 7 uit.

Immers, de afwijkingen van een lineair verband, te verwachten volgens verg. 7, zijn zodanig, dat zij niet binnen de proeffout kunnen vallen. Om dit te zien, schrijven we verg. 7 als volgt:

$$-\left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{\text{totaal}} = n \cdot -\left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = n \cdot k_1 p_0 \left(1 + \frac{k_2 r}{k_3 p}\right)^{-1} \quad (19)$$

Uit fig. 7 kan men nu afleiden, dat

FIG. 8. Invloed van verandering in p op de reactiesnelheidBegin-concentraties: $o = 1,36 \cdot 10^{-4}$ M $r = 0,034 \cdot 10^{-4}$ M

$$\frac{k_2}{k_3 p} = \frac{\text{helling}}{\text{afgesneden stuk}} \text{ der rechte lijn in fig. 7} = 0,75 \cdot 10^5 \text{ l. gaaq}^{-1} \quad (20)$$

mits $p = 1,60 \cdot 10^{-4}$ M, waaruit volgt, dat bij $r = 0,34 \cdot 10^{-5}$ M en $p = 1,60 \cdot 10^{-4}$ M de afwijking van de rechte lijn in fig. 8 20% moet zijn, bij lagere p moet toenemen, bij hogere p moet afnemen. Een dergelijke afwijking zou in fig. 8 zichtbaar moeten zijn.

Evenmin is het mogelijk, verg. 7b in overeenstemming te brengen met het verloop in fig. 8, als we eraan denken, dat uit het quotiënt der hellingen van de lijnen in de fig. 6 en 7 volgt, dat de snelheid der monomoleculaire reactie van p' onder de omstandigheden van fig. 7 niet veel groter kan zijn dan die van de reactie met p . Voor reactie 3 kunnen we dus een reactie met onomgezet phloroglucinol uitsluiten.

De afwijkingen van het lineair verband, die in fig. 8 bij hogere phloroglucinol-concentraties optreden, verlopen net in tegengestelde richting aan hetgeen vergelijking 7b laat verwachten. Men kan, om dit effect te verklaren, denken aan schema 10 (pag. 10) met $m < l$:

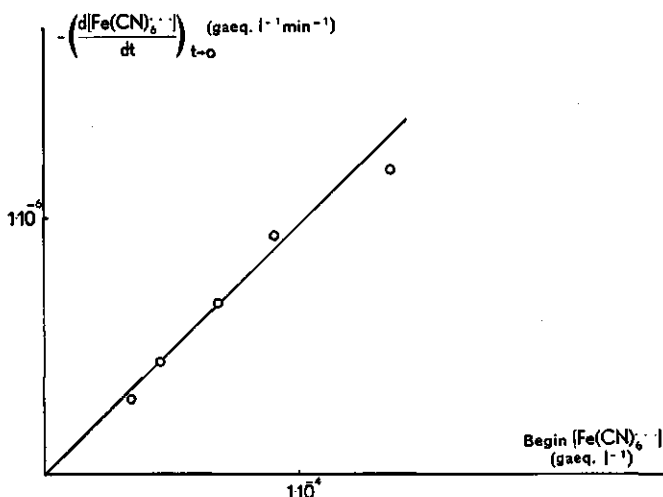
$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{totaal}} = -\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} \cdot (n + l + (m - l) f(p)) \quad (11)$$

D. Afhankelijkheid van de oxydatiesnelheid van veranderingen in o

Deze afhankelijkheid werd onderzocht onder condities die in de buurt liggen van die der proeven samengevat in grafiek 5. (figuur 9, blz. 18).

Het lineaire verloop van deze lijn is in overeenstemming met de hypothese, dat aan de reversibele stap der reactie slechts 1 aeq o deelneemt. Ook wijst het erop, dat reactie 3 geen irreversibele oxydatie is; dan zou men nl. verwachten

$$-\left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{totaal}} = n \cdot \left(\frac{do}{dt}\right)_{\text{eerste trap}} = n \cdot \frac{k_3 \cdot k_1 \cdot p \cdot o^2}{k_2 r + k_3 o} \quad (9)$$

FIG. 9. Invloed van veranderingen in o op de reactiesnelheidBegin-concentraties: $r = 0,034 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ $p = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

Evenals boven voor het analoge geval der afhankelijkheid van de phloroglucinolconcentratie reeds is uiteengezet, verwacht men volgens deze formule een afwijking van het lineaire verband van ong. 20% bij $r = 0,34 \cdot 10^{-5} \text{ M}$, $p = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $o = 1,36 \cdot 10^{-4} \text{ M}$; terwijl de afwijkingen voor lagere concentraties moeten toenemen, hetgeen in fig. 9 zichtbaar zou moeten zijn.

Wel kan men m.b.v. een combinatie van een monomoleculaire reactie en een irreversibele oxydatie van p' een afhankelijkheid der reactiesnelheid van o construeren, die zowel met het quotiënt der hellingen van de lijnen van fig. 6 en 7, alsook met fig. 9 in overeenstemming is.

Immers, het genoemde quotiënt eist, dat in dit geval de snelheid der monomoleculaire reactie van p' groter moet zijn dan die van de reactie met o . Laat men als eerste benadering buiten beschouwing, dat de reactie bij hogere concentraties langzamer verloopt dan de theorie laat verwachten (zie pag 16), dan berekent men uit het genoemde quotiënt:

$$\frac{k_3}{k_4 o} = 3 \quad (21)$$

(mits $o = 1,36 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $p = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $r = 0,34 \cdot 10^{-5} \text{ M}$)

De vergelijking, die nu de oxydatiesnelheid moet beschrijven, wordt analoog aan 7b:

$$\begin{aligned} - \left(\frac{do}{dt} \right)_{\text{totaal}} &= n \cdot \left(\frac{do}{dt} \right)_{\text{eerste trap}} = n \cdot \frac{(k_3 + k_4 o) \cdot k_1 p o}{k_2 r + k_3 + k_4 o} = \\ &= n \cdot k_1 p o \left(1 + \frac{k_3 r}{k_3 + k_4 o} \right)^{-1} \end{aligned} \quad (22)$$

Doordat nu k_3 groot is vergeleken bij $k_4 o$, blijven de afwijkingen van het lineaire verloop in fig. 9 beperkt tot ongeveer 4% (binnen het gebied, dat door de waarnemingen van deze figuur bestreken wordt), zodat zij t.g.v. waarnemingsfouten aan de aandacht kunnen ontsnappen.

E. Samenvatting der resultaten

De reactiesnelheid blijkt bij grote verdunning in overeenstemming te zijn met het schema



HOOFDSTUK III

STEUN VOOR HET VERONDERSTELDE MECHANISME
UIT ANDERE GEGEVENS

A. GEGEVENS OVER DE STOECHIOMETRIE DER BEGINREACTIE

Het resultaat, in het vorige hoofdstuk bereikt, bewijst op zichzelf nog niet dat schema (1) ook werkelijk juist is. Immers, van de onbewezen veronderstellingen, op pag. 10 genoemd, die in deze interpretatie van de vertraging, die $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ op de oxydatie uitoefent, opgesloten liggen, is nog maar de eerste onderzocht. Omtrent de tweede van deze hypothesen, nl. of de reversibele trap de eerste oxydatietrap is of niet, kan men zoal geen absolute zekerheid, dan toch een zekere mate van waarschijnlijkheid verkrijgen door onderzoek van de stoechiometrie der reactie, en wel voornamelijk van de reactie die in de eerste minuten na menging der reagentia plaatsvindt (immers, daarvoor geldt de gevonden kinetiek).

Om hier iets over te weten te komen, moet men over een methode beschikken om naast de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ -concentratie ook de phloroglucinol-concentratie te bepalen. Spectrophotometrisch is dit niet uitvoerbaar: bij het absorptie-maximum van phloroglucinol (267 m μ) absorberen niet alleen $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ en $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (deze storing zou desnoods door correctie te elimineren zijn, daar de concentraties van deze stoffen bekend zijn) maar ook oxydatieproducten van phloroglucinol.

Het is echter mogelijk de specificiteit van de spectrophotometrische bepaling te vergroten door het uitvoeren van een kleurreactie. Van de talloze kleurreacties die van phloroglucinol bekend zijn is een groot deel onbruikbaar, daar zij niet voldoen aan de eisen qua gevoeligheid en specificiteit, die aan een dergelijke reactie gesteld moeten worden. De kleurreactie volgens LINDT (114) met vanilline en HCl daarentegen is gevoelig genoeg, en is ook redelijk specifiek: van een aantal polyphenolen, op hun mogelijkheid onderzocht om met vanilline-HCl een kleur te geven, veroorzaakte slechts resorcinol een kleur die vergelijkbaar was met die veroorzaakt door phloroglucinol.

Weliswaar stoort $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ op deze reactie, maar dit is te voorkomen door het reactiemengsel van te voren met TiCl_3 te behandelen. Een andere moeilijkheid is, dat de optische dichtheid niet constant is: bij het maximum der absorptie (500 m μ) gaat zij als functie van de tijd door een maximum, ws. omdat er een neerslag gevormd wordt. Dit maximum treedt op ongeveer 5 minuten nadat de reagentia met elkaar gemengd zijn; het werd als best reproduceerbare punt der optische dichtheid-tijd-curve uitgekozen voor de spectrophotometrische bepaling. De geldigheid der wet van Beer was niet volledig, speciaal niet bij lage phloroglucinol-concentraties (zie figuur 10), de afwijkingen waren echter gering.

Chemicaliën:

Vanilline: CODEX O.P.G.

TiCl_3 : een praeparaat van BDH. Een oplossing die oorspronkelijk 12,5 % TiCl_3 in 15 % HCl was geweest, waarvan het gehalte tijdens het bewaren echter was achteruitgegaan. Gebruikt werd zij na verdunning 1:100 met geconcentreerd HCl.

Vanilline-reagens volgens (114): 0,1612 g vanilline + 16,0 ml aethanol (96 %) met geconcentreerd HCl aangevuld tot 100 ml.

De metingen der optische dichtheid geschieden m.b.v. een BECKMAN-DU-spectrophotometer.

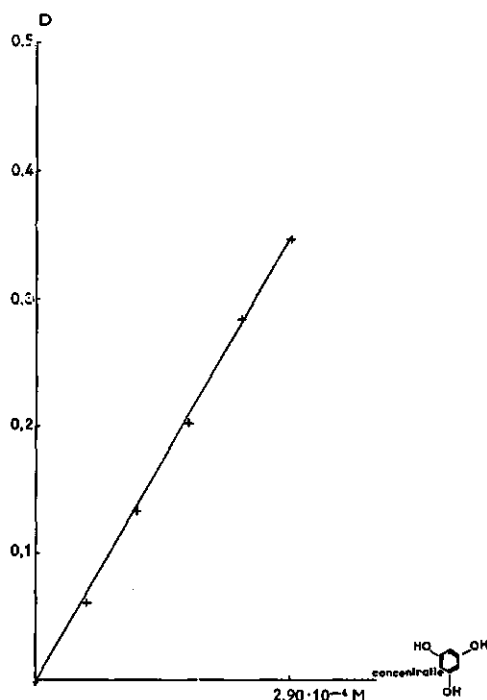


FIG. 10. Optische dichtheid na uitvoeren der kleurreactie als functie van p

Experimentele procedure:

Een reactie werd aan de gang gebracht als in het eerste hoofdstuk beschreven; ook nu werd de redoxpotentiaal als functie van de tijd genoteerd, doch daarnaast werd op gezette tijden telkens 1 ml aan het reagerende mengsel onttrokken; deze werd in 1 ml TiCl_3 -oplossing (verdund, als boven beschreven) gepipetteerd. Nadat gedurende de reactie een aantal van dergelijke monsters waren klaargemaakt, werden de metingen van de redoxpotentiaal gestaakt; aan ieder monster werden 5 ml vanilline-reagens toegevoegd, vervolgens werd de optische dichtheid herhaaldelijk gemeten totdat zij door een maximum was gegaan. Als standaard fungeerde hierbij een mengsel van 1 ml verdunde TiCl_3 -oplossing + 1 ml buffer + 5 ml vanilline-reagens.

Metingen op tijd 0, d.i. vlak na het toevoegen van de phloroglucinol-oplossing aan buffer + $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ kunnen op deze manier niet uitgevoerd worden, daar de oplossingen dan nog niet volledig gemengd zijn. Deze moeilijkheid kon ondervangen worden door de oplossingen niet te mengen voordat zij aan TiCl_3 werden toegevoegd, doch eerst 1 ml $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ + $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ -oplossing in buffer aan 2 ml TiCl_3 -oplossing toe te voegen, en daarna pas, na reductie van het $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, 1 ml phloroglucinol + $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ -oplossing in buffer toe te voegen; de concentraties (ook die der fosphaten) waren hierbij zodanig gekozen, dat de twee porties van 1 ml na menging precies de concentraties van het reagerende mengsel op tijd 0 zouden hebben. Nadat beide porties aan de TiCl_3 -oplossing waren toegevoegd, werden 10 ml vanillineragens erbij gepipetteerd.

Resultaten

Twee van de experimenten zijn weergegeven in de figuren 11 en 12, blz. 22.

De verhouding $\frac{\text{verbruik phloroglucinol}}{\text{verbruik } \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}}$ blijkt in het begin der reactie = 1 te zijn, wanneer men ten minste veronderstelt, dat oxydatieproducten geen kleur

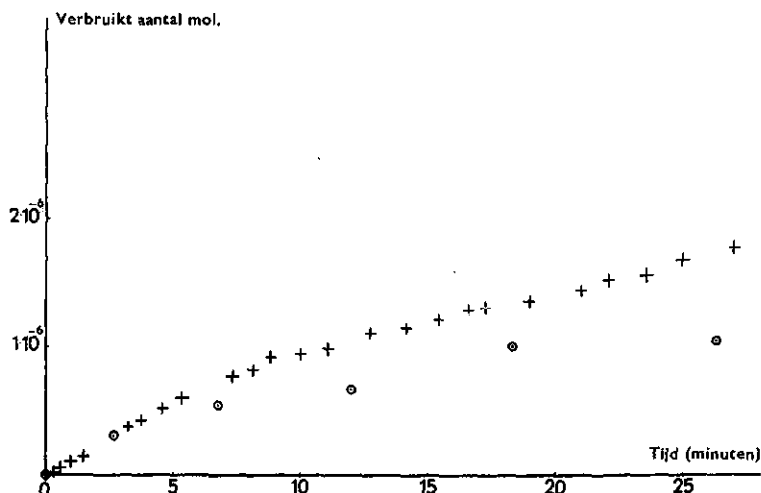


FIG. 11. Vergelijking van de vermindering van p met die van o . Bij het begin der reactie zijn aanwezig (in 130 ml oplossing): $1,76 \cdot 10^{-5}$ Mol $K_3Fe(CN)_6$ (verbruikt aantal Mol met + aangegeven); $1,40 \cdot 10^{-5}$ Mol phloroglucinol (verbruikt aantal Mol met o aangegeven).

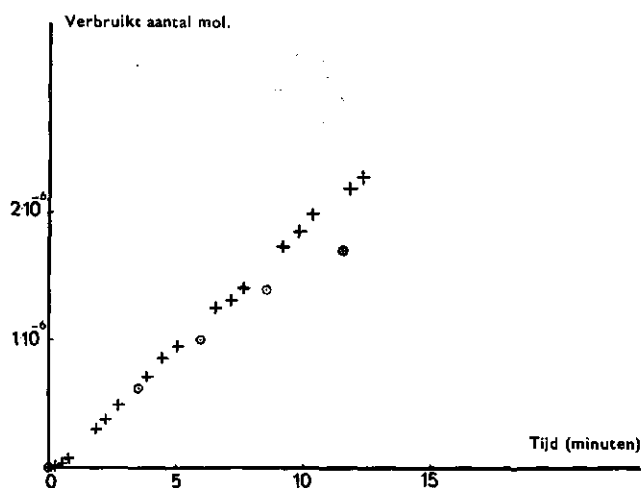


FIG. 12. Hetzelfde als figuur 11. Bij het begin der reactie aanwezig: $1,76 \cdot 10^{-5}$ Mol $K_3Fe(CN)_6$, $2,09 \cdot 10^{-5}$ Mol phloroglucinol.

geven met vanilline-HCl (van de oxydatieproducten, waar we bij het begin der reactie mee te maken hebben, is de absorptie bij de gebruikte concentraties en de gebruikte golflengte zo laag, dat men daar geen last van heeft). In dit verband dient de aandacht gevestigd te worden op de proef, uitvoeriger beschreven op pag. 42, waarbij na chromatographische scheiding van het mengsel van reactieproducten blijkt, dat slechts onomgezet phloroglucinol (dat dan nog steeds in het mengsel aanwezig is) een kleur met vanilline-HCl geeft, oxydatieproducten

niet. Weliswaar heeft men bij deze proef met zeer veel verder van het phloroglucinol afstaande stoffen te maken dan bij de beginreactie: tussenproducten zouden b.v. wel de reactie kunnen geven, en chromatographisch moeilijk van phloroglucinol gescheiden kunnen worden. Strikt logisch gesproken kunnen we dus slechts zeggen:

$$\left(\frac{\text{verbruik phloroglucinol}}{\text{verbruik Fe(CN)}_6^{---}} \right)_{t \rightarrow 0} \geq 1 \quad (24)$$

Hierdoor wordt de mogelijkheid uitgesloten, dat een molecule phloroglucinol door een aantal Fe(CN)_6^{---} -ionen wordt geoxydeerd tot b.v. een chinon, voordat de reversibele oxydatietrap wordt bereikt; dit laatste is nl. een der mogelijkheden om tot een reversibele stap te komen waar geen vrije radicalen bij betrokken zijn. Wil een latere dan de eerste oxydatietrap reversibel zijn, dan moet een oxydatieproduct van phloroglucinol met één of meer moleculen onomgezet phloroglucinol gereageerd hebben.

Onmogelijk is dit niet, schema 10 (pag. 10) is zelfs op een dergelijke reactie gebaseerd. Toch legt het resultaat van dit hoofdstuk ons bij het construeren van een reactiemechanisme dat aansluit bij de experimentele gegevens beperkingen op, waar het veronderstelde schema wel, andere schema's niet aan voldoen.

B. DE AANWEZIGHEID VAN VRIJE RADICALEN

Een volgende verificatie van het schema (1) bestaat erin, de aanwezigheid van vrije radicalen te bewijzen.

Dit kan langs magnetische weg gebeuren, zoals b.v. in de onderzoeken van MICHAELIS *c.s.* (126-128) m.b.v. metingen der magnetische susceptibiliteit, of in meer recente onderzoeken (28, 129) m.b.v. paramagnetische resonantie. Beide methoden zijn echter gebonden aan de aanwezigheid van een vrij grote concentratie vrije radicalen; speciaal in water als oplosmiddel wordt de volle gevoeligheid der methode der paramagnetische resonantie niet bereikt (138), zodat men hier concentraties van de orde 10^{-3} M aan vrije radicalen zou moeten hebben (117) voor een duidelijk positieve reactie, hetgeen onbereikbaar geacht moet worden: een verzadigde oplossing van phloroglucinol in water is b.v. $6 \cdot 10^{-2} \text{ M}$, zodat dit voor meer dan 1% als vrij radicaal aanwezig zou moeten zijn. Een proef, verricht door Ir. C. MACLEAN op het Laboratorium voor Technische Physica der Technische Hogeschool te Delft, was dan ook negatief. Een recent onderzoek (93) is er, in het geval van een alkalische oplossing van pyrogallol, echter wel in geslaagd m.b.v. deze methode vrije radicalen aan te tonen.

Een andere mogelijkheid, de aanwezigheid van vrije radicalen te bewijzen, is de radicalen een typische radicaalreactie te laten geven. Hiervoor werd de polymerisatie van vinylverbindingen gekozen, enerzijds omdat dit een zeer gevoelige reactie is: de versterkingsfactor is zeer groot, doordat één radicaal een hele keten van reacties kan uitlokken, anderzijds ook, omdat het een typische eigenschap van vrije radicalen is, deze te initiëren.

Van deze mogelijkheid om radicalen als tussenproducten bij reacties aan te tonen is opmerkelijk weinig gebruik gemaakt; bekend zijn b.v. de onderzoeken van EVANS en medewerkers (10, 55), ook ZIEGLER (199) vestigde de aandacht op een dergelijke reactie, terwijl DRUMMOND en WATERS (35, 36) bij een aantal oxydaties op deze wijze radicalen hebben kunnen aantonen. Bij polyphenolen waren hun resultaten echter niet duidelijk: hun oxydatiemiddel, Mn^{+++} -pyro-

phosphaat, gaf met polyphenolen neerslagen, hetgeen in dit onderzoek in het geval van phloroglucinol bevestigd werd.

De eerste proeven in dit onderzoek vonden plaats met vinylacetaat als monomeer; dit heeft het voordeel redelijk oplosbaar te zijn in water, doch het nadeel in zuur of alkalisch milieu te hydrolyseren (174) waarbij aceetaldehyde vrijkomt dat met phloroglucinol onder vorming van een phenol-aldehydehars kan reageren. Styreen vertoont deze eigenschap niet, men is hierbij daarentegen aan een milieu gebonden, dat een aanzienlijk percentage alcohol bevat, door de geringe oplosbaarheid van styreen in water (112).

De polymerisatieproeven werden, in navolging van DRUMMOND en WATERS, zodanig uitgevoerd, dat de reactie in een milieu plaatsvond waarin styreen wel enigszins, polystyreen daarentegen zeer veel minder oplosbaar is; een polymerisatie uit zich dan doordat er in het reagerende mengsel een troebeling van polystyreen ontstaat.

Apparatuur

De polymerisatieproeven dienen uitgevoerd te worden bij zo volledig mogelijke uitsluiting van zuurstof, daar zuurstof als inhibitor kan werken (3, 8). Principeel is de meest veilige werkwijze, opgeloste zuurstof vóór het mengen der reagentia uit de oplossingen te verdrijven en het mengen zelf onder uitsluiting van zuurstof te laten plaatsvinden, zodat de reactie van het begin af aan in zuurstofvrij milieu plaatsvindt. Om dit experimenteel mogelijk te maken, werd het in figuur 13 afgebeelde toestel ontworpen.

Dit toestel bestaat in hoofdzaak uit twee reservoirs, A en B, met elkaar verbonden door een capillair F (binnendiameter ongeveer 1 mm). Eén oplossing wordt in A, een erlenmeyer van 100 ml, geplaatst, en een snelle stroom stikstof wordt erdoor geleid langs kraan E; kraan C staat hierbij open. C wordt nu gesloten, en de andere oplossing wordt in B geplaatst, terwijl de kranen in een

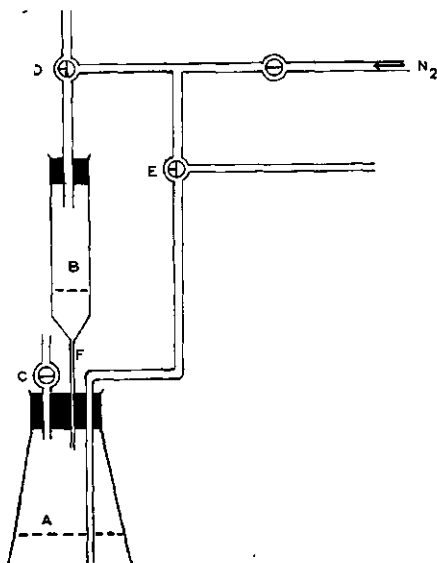


FIG. 13. Toestel voor het mengen der oplossingen bij polymerisatieproeven.

zodanige stand zijn, dat de stikstofstroom eerst door oplossing A gaat, vervolgens via capillair F en de oplossing in B langs kraan D ontsnapt; aldus wordt bereikt, dat de stikstofstroom de oplossing in B op haar plaats houdt en haar tegelijkertijd van zuurstof bevrijdt. De hiervoor benodigde stand der kranen is in figuur 13 getekend. De oplossingen worden gemengd door E te sluiten, D zodanig in te stellen dat de oplossing in B door een stikstofstroom naar A wordt gedreven, en dan C te openen.

Dan wordt gedurende nog een paar minuten stikstof via E doorgeleid die dan langs D ontsnapt, terwijl de oplossing uiteindelijk van alle contact met de buitenwereld wordt afgesloten doordat eerst C en dan E gesloten worden.

Chemicaliën

Aethanol: vers gedestilleerd, k.p. $78,1 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

Styreen: gezuiverd van inhibitor door te destilleren door een VIGREUX-opzet (85 cm lengte, 1,0 cm diameter) in een stikstofstroom, kort voor het gebruik nogmaals gedestilleerd door een VIGREUX-opzet van 17,5 cm lengte, 1,1 cm diameter in een stikstofstroom (k.p. $46-48^\circ\text{C}$ bij 17 mm).

$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$: pro analysi MERCK.

$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$: pro analysi MERCK.

$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, $\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ en H_2O_2 : „chemisch zuiver“.

Beschrijving der proeven

1. Als controle op de zuiverheid van het styreen en doeltreffendheid van het verdrijven van zuurstof werd een polymerisatie op gang gebracht m.b.v. een erkend radicaal-leverend systeem: $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ - $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. De proef werd a.v. uitgevoerd, dat de oplossing in A een verzadigde oplossing van $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ was in 70 % aethanol, waaraan 0,7 ml styreen toegevoegd werd; de oplossing in B bestond uit ong. 0,04 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ in 5 ml H_2O + 12 ml aethanol.

Enige tijd na menging der oplossingen ontstond er een troebeling, die steeds dichter werd totdat de oplossing uiteindelijk (na een paar uur) een melkachtig uiterlijk had verkregen. Bij een blancoproef zonder styreen was geen troebeling zichtbaar.

2. De oplossing in A bestond uit 0,10 g $\text{FeSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 10 ml H_2SO_4 (ong. 1,2 N in water), 25 ml aethanol en 0,70 ml styreen, de oplossing in B was 1 ml H_2O_2 (30 % in water) + 2 ml water + 7 ml aethanol. Ook hierbij ontstond na menging de melkachtige troebeling, terwijl een blancoproef zonder styreen een heldere oplossing opleverde.

3. De oxydatie van phloroglucinol vond onder de volgende condities plaats: de oplossing in A bestond uit 0,70 ml styreen, 0,50 ml NaOH (ong. 0,1 N in H_2O), 25 ml aethanol en 10 ml phloroglucinol-oplossing ($1,24 \cdot 10^{-2}$ M in H_2O), terwijl zich in B 5,5 ml bevond van een $1,56 \cdot 10^{-3}$ M oplossing van $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ in 70 % aethanol- H_2O (volumepercenten). Hierbij traden dezelfde verschijnselen op die bij het systeem $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ beschreven werden.

Dat het werkelijk de interactie tussen oxydatieproducten van phloroglucinol en styreen was, die de troebeling veroorzaakte, werd m.b.v. blancoproeven bewezen; de aanwezigheid van phloroglucinol, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en styreen samen was voor het ontstaan der troebeling noodzakelijk.

Ook door reductie van $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ontstaan $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ kan de troebeling niet veroorzaken: hierdoor kunnen niet meer dan $0,86 \cdot 10^{-6}$ Mol $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ ontstaan in 28,9 ml aethanol + 11,6 ml H_2O + 0,70 ml styreen + 0,50 ml 0,1 N NaOH, en een proef toonde aan dat hiermee de oplosbaarheid van $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ niet wordt overschreden.

Resultaten

Het positieve resultaat der radicaalreactie is in zoverre een steun voor het voorgestelde mechanisme, dat bewezen wordt dat uit phloroglucinol door inwerking van een oxydatiemiddel, dat zelf niet in staat is de polymerisatie van styreen te initiëren, radicalen kunnen ontstaan.

Wel mogen we daarbij niet vergeten, dat de radicalen, die deze polymerisatie initiëren, niet dezelfde behoeven te zijn die volgens het voorgestelde schema invloed uitoefenen op de kinetiek: immers ook bij de reacties, volgend op

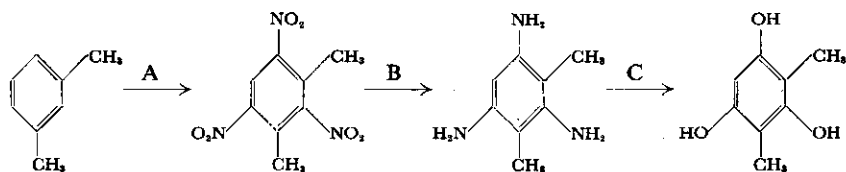
reactie 3 in schema (1) kunnen vrije radicalen een rol spelen. Een met het in schema (1) geformuleerde radicaal veel overeenkomst vertonend radicaal, het door MÜLLER en LEY bestudeerde 2.4.6.-tri-tert.-butyl-phenoxy-1, is b.v. niet in staat een polymerisatie van styreen te initiëren (133). Bovendien kan het mechanisme onder de bij de polymerisatieproef gebruikte condities anders zijn dan bij de kinetische metingen.

C. DE OXYDATIE VAN 2.4-DIMETHYL-PHLOROGLUCINOL

Nog een steun voor het veronderstelde mechanisme kan gevonden worden in de kinetiek der oxydatie van derivaten van phloroglucinol waarbij één of meer van de koolstofatomen, die aanleiding kunnen geven tot aaneenschakeling van benzeenkernen, door alkylgroepen gecamoufleerd zijn. Mocht het schema (1) juist zijn, dan zou niet gemakkelijk aanneembaar te maken zijn, waarom dit dan niet meer opgaat bij de alkyl-gesubstitueerde phloroglucinol-derivaten; is de kinetiek in beide gevallen echter dezelfde, dan zou dit een steun zijn voor het veronderstelde mechanisme. Ook in ander opzicht is het belangwekkend, zich te verdiepen in de kinetiek der oxydatie van phloroglucinol-derivaten; WEISSBERGER *c.s.* vond bij zijn studie der kinetiek van de oxydatie van hydrochinon-derivaten merkwaardige invloeden van een dergelijke substitutie op de kinetiek (115-116, 192); de vraag rijst of dit bij phloroglucinol ook het geval is. Opmerkelijk is b.v. in het geval der phloroglucinol-derivaten, dat de derivaten, die het sterkst afgeschermd zijn, nl. 2.4-dimethyl- en 2.4.6.-trimethyl-phloroglucinol, vlugger geoxydeerd worden dan phloroglucinol zelf; CAMPBELL en COPPINGER (29) berichten dat de derivaten zelfs autoxydatie in vaste toestand vertonen.

Chemicaliën

2.4-dimethyl-phloroglucinol (afgekort DMPG): bereid volgens



Stap A volgens MARSHALL (119), stap B en C volgens WEIDEL en WENZEL (191). Het uiteindelijke product werd gezuiverd door herhaalde kristallisaties uit xyleen en uit 95 % xyleen + 5 % ijsazijn; het vertoonde een correct s.p. (161,8 °C ongecorr.) en was praktisch kleurloos.

Om de door CAMPBELL en COPPINGER waargenomen autoxydatie in vaste toestand tegen te gaan werd het DMPG in een vacuum-exsiccator bewaard. De kinetische metingen werden binnen 5 dagen, de radicaalreactie binnen 10 dagen na de laatste zuivering verricht.

$K_3Fe(CN)_6$: pro analysi MERCK.

$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3 H_2O$: pro analysi MERCK.

Phosphaten: dezelfde praeparaten als in hoofdstuk 2 gebruikt.

Aethanol en styreen: dezelfde praeparaten als in hoofdstuk 3b gebruikt.

De kinetiek der oxydatie van DMPG

De procedure was in principe dezelfde als die in het tweede hoofdstuk beschreven: ook nu werd de redoxpotential als indicator voor de $Fe(CN)_6^{3-}$ -concentratie gebruikt. Bij een mengsel van 10 ml $K_3Fe(CN)_6$ -oplossing, 10 ml $K_4Fe(CN)_6$ -oplossing en 25 ml buffer (Na_2HPO_4 0,112 M + NaH_2PO_4 0,074 M) werd, nadat het mengsel op 25 °C gebracht was en opgeloste O_2 eruit verdreven was door een stikstofstroom, 10 ml DMPG-oplossing gepipetteerd

(tijd van leeglopen der pipet: 5 sec), daarna werd de redoxpotential als functie der tijd genoteerd.

De DMPG-oplossing was zeer zwak aangezuurd met HCl (ongeveer $0,2 \cdot 10^{-3} \text{N}$) om autoxydatie tijdens het op-temperatuur-brengen te voorkomen.

De berekening van $\left(\frac{do}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}$ vond plaats als in het tweede hoofdstuk beschreven.

De proeven zijn weergegeven in de figuren 14 en 15; telkens is voor iedere proef met een streepje aangegeven, in welk interval $\left(\frac{do}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}$ kan liggen t.g.v. onnauwkeurigheden bij het aflezen van $\left(\frac{dE}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}$ (andere onnauwkeurigheden als temperatuurschommelingen e.d. zijn hier nog niet in opgenomen).

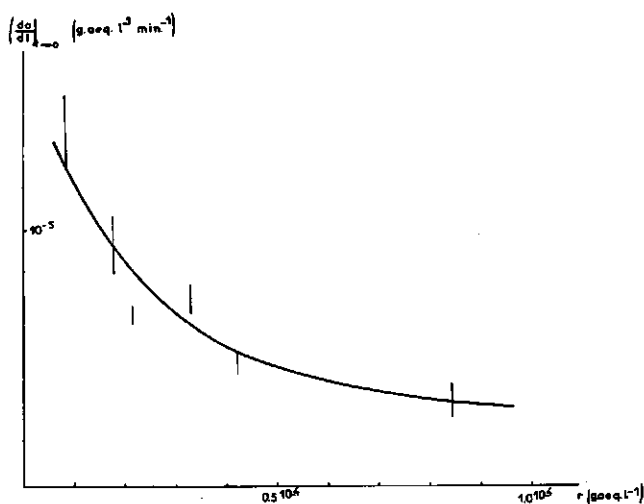


FIG. 14. Invloed van $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ op de oxydatiesnelheid van DMPG.

Begin-concentraties: $o = 1,774 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

(DMPG) = $0,709 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

In een aantal experimenten, die niet in de vorm van een grafiek zijn weergegeven, werd geconstateerd dat de reactiesnelheid recht evenredig is met o en met (DMPG).

Zet men, evenals in hoofdstuk II werd gedaan, nu de $\frac{1}{\left(\frac{do}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}}$ -waarden uit figuur 14 uit tegen r , dan krijgt men figuur 15 (zie blz. 28).

De proeven blijken dus goed in overeenstemming te zijn met de formule:

$$-\frac{do}{dt} = \frac{k_3 \cdot k_1 \cdot o \cdot (\text{DMPG})}{k_2 r + k_3} \quad (25)$$

Om hieruit de reactiesnelheidsconstanten k_1 en k_2/k_3 af te leiden, werd op de gemiddelden der uiterste waarden uit figuur 15, overeenkomende met de middens der bij elke waarneming behorende lijn, de methode der kleinste kwadraten

*) k_3 is hierbij, evenals op pag. 19, de snelheid van de totale afbraakreacties van het radicaal onder de gegeven omstandigheden.

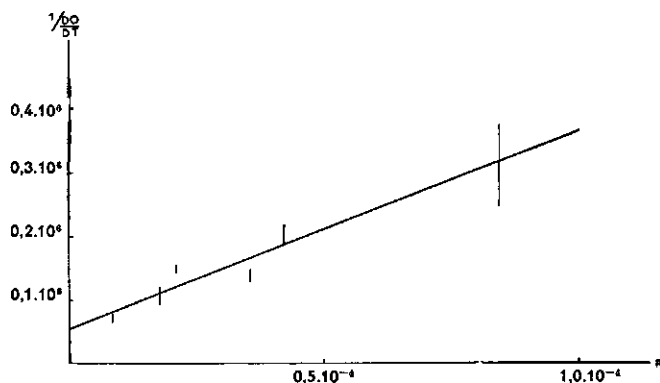


FIG. 15. $-\frac{1}{\left(\frac{do}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}}$ -waarden der proeven, weergegeven in fig. 14, uitgezet tegen r .

toegepast. Men vindt dan, dat figuur 15 het best kan worden weergegeven door

$$\frac{1}{\left(\frac{do}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}} \cdot 10^{-5} = 0,308 \cdot 10^4 r + 0,056 \quad (26)$$

Hieruit volgt:

$$k_1 = 1,42 \cdot 10^3 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}. \quad (27)$$

$$\frac{k_2}{k_3} = 0,550 \cdot 10^5 \text{ l. mol}^{-1}. \quad (28)$$

pH = 6,94, temp. = 25 °C.

Het aantonen van vrije radicalen

Dit geschiedde op dezelfde manier als in hoofdstuk 3b beschreven: 1,00 mg DMPG werd opgelost in 10 ml H₂O + 25 ml aethanol + 0,50 ml 0,1 N NaOH + 0,70 ml styreen, en hieraan werd onder uitsluiting van zuurstof (als in hoofdstuk 3b beschreven) 5,5 ml K₃Fe(CN)₆-oplossing ($1,56 \cdot 10^{-3}$ M in 70 % aethanol) toegevoegd. De reactie was positief, echter langzamer en ook zwakker dan een overeenkomstige proef met 1,09 mg phloroglucinol.

Conclusies uit de proeven

Het belangrijkste resultaat van de in dit hoofdstuk beschreven waarnemingen is wel, dat ook het DMPG bij oxydatie aan dezelfde kinetiek is onderworpen als phloroglucinol zelf. Zoals in het begin van dit hoofdstuk is uiteengezet, is dit een steun voor schema (1). De gemakkelijke oxydeerbaarheid van DMPG wordt er op zichzelf nog niet begrijpelijker door; misschien zou een onderzoek der kinetiek van 2-methyl- en 2,4,6-trimethyl-phloroglucinol hier licht op werpen.

Van de quantitative gegevens van dit hoofdstuk verdient vooral de aandacht, dat het quotiënt k_2/k_3 bij DMPG van dezelfde orde van grootte is als bij phloroglucinol; volledig vergelijkbaar zijn de twee gevallen niet, daar de concentraties iets uiteenlopen.

Omtrent de aard van reactie 3 bij DMPG kunnen uit deze proeven geen con-

clusies getrokken worden, daarvoor zijn zij te weinig talrijk. Toch is het feit, dat de remming der oxydatiesnelheid door toevoegen van $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ in beide gevallen van dezelfde orde van grootte is, in overeenstemming met de veronderstelling, dat we hier met eenzelfde effect te maken hebben.

Samenvattend kan aan het einde van dit hoofdstuk opgemerkt worden, dat door de onderzoeken, in hoofdstuk 2 en 3 beschreven, schema (I) zoal niet met zekerheid, dan toch met grote waarschijnlijkheid geldig verklaard kan worden. De experimentele gegevens (kinetiek, stoichiometrie, aanwezigheid van vrije radicalen, analogie bij een derivaat) kunnen ieder voor zich wel anders uitgelegd worden, allen zijn zij echter in overeenstemming met het voorgestelde mechanisme. Meer gegevens zouden b.v. door een studie van de uiteindelijke oxydatieproducten te verkrijgen zijn, in laatste instantie zou zelfs een volledige structuurbepaling van deze producten vereist zijn. Hoewel een dergelijke structuurbepaling niet in de lijn van dit onderzoek ligt, ligt het toch wel voor de hand dat er in de volgende hoofdstukken het een en ander omtrent de oxydatieproducten medegedeeld zal worden.

HOOFDSTUK IV

GEGEVENS OVER HET MENGSEL VAN OXYDATIEPRODUCTEN, ONTSTAANDE BIJ OXYDATIE VAN PHLOROGLUCINOL

Wanneer men begint met de studie der uiteindelijke reactieproducten, zoals deze aan het einde van het vorige hoofdstuk in uitzicht werd gesteld, dan stuit men op de normale moeilijkheden, die het onderzoek van dergelijke stoffen zo vaak hebben vertraagd of zelfs doen staken: de normale methoden van zuivering en van onderzoek, door de organicus toegepast, zijn hier niet zonder meer te gebruiken.

Reeds bij sommige der kinetische proeven was opgemerkt, dat er bij deze oxydatie een sterk gekleurde stof ontstaat: laat men de reactie met overmaat phloroglucinol plaatsvinden, dan is het reactiemengsel na ontkleuring van het $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ bruinachtig gekleurd, vooral als de pH der oplossing hoog is (ong. 9). Het gelukt ook vrij gemakkelijk, een bruingekleurde stof te scheiden van het begeleidende mengsel van zouten: aanzuren en extraheren met een met water niet in iedere verhouding mengbare alcohol (in dit onderzoek werd daar meestal iso-amylalcohol voor gebruikt) is voldoende. Men krijgt het mengsel van oxydatieproducten zoal niet voor 100%, dan toch voor 70% (berekend op het gewicht organische stof) in iso-amylalcohol; zouten (sulfaat, fosphaat, ijzer) zijn er dan niet meer in aan te tonen. Wil men echter de reactieproducten uit deze oplossing in vaste toestand in handen krijgen, dan is dit niet mogelijk zonder dat er veranderingen optreden: het absorptiespectrum van het na droogdampen achtergebleven residu is, na oplossen, anders dan dat van een fractie die niet drooggedampt geweest is, al worden de veranderingen in het absorptiespectrum geringer naar mate het indampen voorzichtiger gebeurt.

Een andere moeilijkheid, reeds aangestipt in hoofdstuk 2 (pag. 13), is, dat de reacties volgende op de tot nog toe bestudeerde beginreactie (d.i. de reactie vlak na menging der reagentia) met de gebruikte werkwijze zeer slecht reproduceerbaar zijn. Meet men b.v. van een aantal op gelijke wijze bereide oxydatiemengsels de absorptiespectra der producten in iso-amylalcoholoplossing, dan

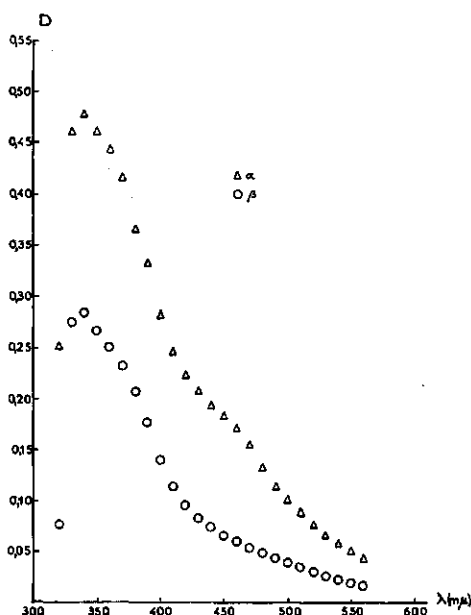


FIG. 16. Absorptiespectra van twee onder gelijke omstandigheden bereide porties oxydatieproduct in iso-amylalcohol

krijgt men uiteenlopende krommen; ook het aantal $\text{gaeq Fe(CN)}_6^{4-}$, verbruikt per Mol phloroglucinol, is niet goed reproduceerbaar te bepalen, terwijl er evenmin verband te zien is tussen het absorptiespectrum en dit verbruik.

Toch is het mogelijk gebleken, iets over de gemiddelde grootte van het moleculairgewicht van de oxydatieproducten te weten te komen. Men moet dan echter een methode toepassen, waarvoor de te onderzoeken stof niet in vaste toestand aanwezig hoeft te zijn. Immers, als er bij het droogdampen van de stof veranderingen optreden, dan is het gevaar niet denkbeeldig, dat we hier te maken hebben met verharingsen; meten we nu van een dergelijk verharst product een gemiddeld moleculairgewicht, dan zal dit door de verharingsing groter zijn dan wat eigenlijk slechts op grond van oxydatie gevonden zou moeten worden.

Van de methoden voor moleculairgewichtsbepaling van opgeloste stoffen werd de bepaling van de diffusie-coëfficiënt uitgekozen. Tegen deze methode zijn herhaaldelijk bezwaren geuit (zie b.v. J. J. HERMANS en P. H. HERMANS (87)); waar het hier echter een voorlopige oriëntatie betreft, leek het verantwoord erop te vertrouwen. De (op zichzelf veel betrouwbaarder) methode der moleculairgewichtsbepaling m.b.v. de osmotische druk kon niet toegepast worden bij gebrek aan een geschikte semipermeabele membraan.

Experimenteel gedeelte

Het mengsel van oxydatieproducten werd bereid door phloroglucinol in een buffer van $\text{pH} = 7,0$ met een overmaat $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ te oxyderen. De beginconcentraties waren: phloroglucinol $6,2 \cdot 10^{-3}$ M, Na_2HPO_4 $5 \cdot 10^{-3}$ M, NaH_2PO_4 $5 \cdot 10^{-3}$ M, $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ ongeveer $2,5 \cdot 10^{-2}$ M. De concentraties van phloroglucinol en $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ waren dus aanzienlijk hoger dan bij de kinetische metingen het geval was; dit werd gedaan om bij dit praeparatieve werk de volumina, waarmee gewerkt moest worden, klein te houden.

Voordat $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$ toegevoegd werd, werd de oplossing van phloroglucinol en de phos-

phaten zoveel mogelijk van zuurstof bevrijd door stikstof door te leiden. Het mengsel werd 2 dagen bij kamertemperatuur bewaard, vervolgens aangezuurd met 4 N H_2SO_4 tot een pH = 2,75. Daarna werd 4 keer met telkens 50 ml iso-amylalcohol geëxtraheerd. Op deze wijze verkreeg men ongeveer 70 % van de organische stof, die oorspronkelijk in het reactiemengsel aanwezig was, in de iso-amylalcohol-phase (gewichtspersent).

De diffusiecoëfficiënt werd gemeten in een toestel KERN LK 30. Dit toestel is al uitvoerig beschreven in de literatuur (111) zodat we hier ermee kunnen volstaan een kort overzicht te geven van het principe, waarop de meting berust.

De grens wordt hierbij gevormd op de gebruikelijke manier, n.l. doordat twee kanaaltjes, waarvan het ene met oplossing, het andere met oplosmiddel is gevuld, in elkaars verlengde worden gebracht. Hierna wordt de grens voorzichtig naar een plaats gebracht waar men haar kan observeren. Het „nulpunt” der tijd (waaronder bij deze proeven het ogenblik, waarop de eerste photo der grens genomen wordt, wordt verstaan) valt dus niet samen met het begin der diffusie.

Daar het niet mogelijk is, om in dit apparaat alcoholische oplossingen te gebruiken, aangezien er geen geschikt type kranenvet voor het smeren der slijpstukken hierbij is, werd het mengsel van oxydatieproducten opnieuw in waterige oplossing gebracht door de alcoholische oplossing met 0,1 N NaOH te extraheren. De oplossing van de Na-zouten der oxydatieproducten werd daarna aangezuurd met HCl (ong. 0,5 N) omdat de interpretatie van diffusiecoëfficiënten van geladen deeltjes nog gevaarlijker is dan die van ongeladen deeltjes (zie b.v. BRUINS (25-27)). Als „oplosmiddel” waar de opgeloste stof naar toe diffundeerde werd 0,1 N NaOH gebruikt, dat verzadigd was met iso-amylalcohol en vervolgens aangezuurd met HCl op precies dezelfde manier als de oplossing der oxydatieproducten.

De vermindering der concentratie bij de grens werd interferometrisch gevolgd: de lichtbundels I en II (zie figuur 17) werden met elkaar tot interferentie gebracht, nadat I door spiegel A weerkaatst was, II door spiegel B (na de cuvet gevuld met oplossing of oplosmiddel gepasseerd te hebben).

Men krijgt dan een aantal interferentielijnen waaruit men de verandering van de brekingsindex langs de grens kan afleiden, en deze kan evenredig gesteld worden met de concentratie.

De gebruikte chemicaliën waren dezelfde als in de hoofdstukken 2 en 3 gebruikt; de iso-amylalcohol was een technisch product, kort voor gebruik gedestilleerd (k.p. 126-132 °C).

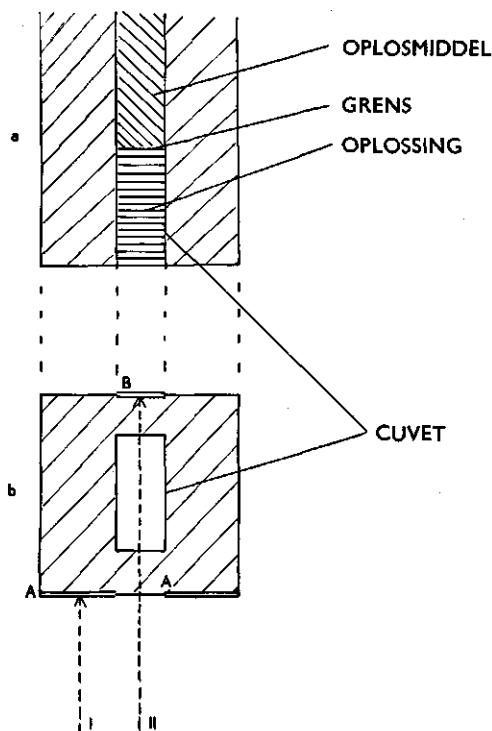


FIG. 17.

Schematische weergave der opstelling

a: vooraanzicht met grens,

b: bovenaanzicht met gang der lichtstralen.

Resultaten

De interferentielijnen, bij een grens waargenomen, zijn weergegeven in figuur 18:

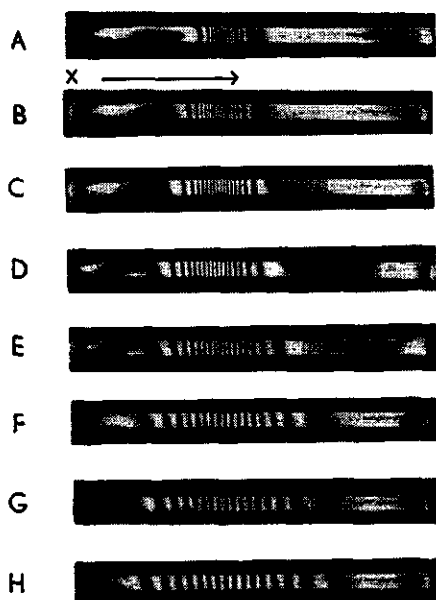


FIG. 18. A: $t = 0$ sec.
 B: $t = 961$ sec.
 C: $t = 2344$ sec.
 D: $t = 4267$ sec.
 E: $t = 6370$ sec.
 F: $t = 12858$ sec.
 G: $t = 16163$ sec.
 H: $t = 22172$ sec.

Voor iedere photo werd uit deze figuur dn/dx als functie van x berekend ($x =$ hoogte in de cuvet loodrecht op de grens; dn/dx is omgekeerd evenredig met de afstand tussen twee opeenvolgende interferentielijnen). Hieruit werd de diffusiecoëfficiënt berekend volgens de door ALEXANDER en JOHNSON „inflexion method” genoemde methode (4): eerst werd de standaarddeviatie σ van de verdeling dn/dx als functie van x gevonden, vervolgens werd σ^2 als functie van de tijd t uitgezet; aldus werd figuur 19 verkregen.

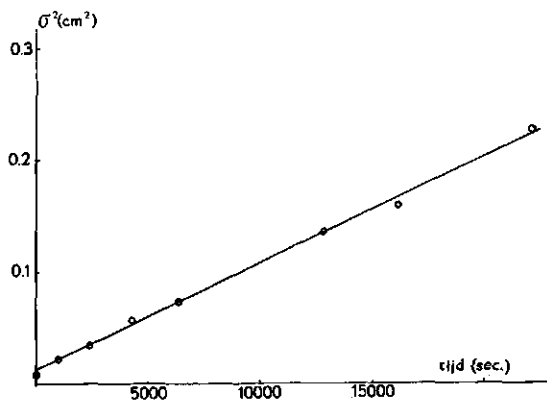


FIG. 19. Kwadraat van de standaarddeviatie, uitgezet tegen t

Met behulp van de relatie:

$$D = \frac{\sigma^2}{2(t + \Delta t)} \quad (29)$$

waarbij: D = diffusiecoëfficiënt

Δt = correctie voor de tijd tussen begin der diffusie en ogenblik der eerste opname

is uit figuur 19 gemakkelijk de diffusiecoëfficiënt te berekenen.

Uit twee metingen werd berekend:

$$D = 0,475 \cdot 10^{-5} \text{ en } 0,489 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1} \quad (30)$$

(temperatuur: $22 \pm 1^\circ \text{C}$ en $21 \pm 1^\circ \text{C}$).

Discussie der resultaten

Willen we dit resultaat gebruiken om de moleculaire dimensies van de betrokken stoffen te berekenen, dan moeten we eraan denken, dat de relaties die ons daarvoor ter beschikking staan afgeleid zijn voor moleculen die groot zijn t.o.v. oplosmiddel.

Veronderstelt men de moleculen bolvormig met straal r , dan is volgens de bekende relatie van SUTHERLAND en EINSTEIN:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r} \quad (31)$$

η , de viscositeit van het oplosmiddel (d.i. water met wat NaCl, HCl en iso-amylalcohol) werd bij $22,6^\circ \text{C}$ op $1,029 \cdot 10^{-2}$ poise bepaald. Met $kT = 4,07 \cdot 10^{-14}$ erg berekent men

$$r = 4,4 \text{ \AA} \quad (32)$$

Vergelijkt men dit met de waarde voor de diffusiecoëfficiënt van phloroglucinol ($D = 0,57 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$ in een oplosmiddel met een viscositeit $= 1,122 \cdot 10^{-2}$ poise bij een temperatuur $18,4 \pm 0,5^\circ \text{C}$), waaruit men voor phloroglucinol m.b.v. de wet van SUTHERLAND-EINSTEIN een straal

$$r_{phlgl} = 3,3 \text{ \AA} \quad (33)$$

berekent, dan ziet men dat gemiddeld gesproken de afmetingen der moleculen oxydatieproduct groter moeten zijn dan die van phloroglucinol. Het moleculairgewicht (evenredig met r^3 voor bolvormige deeltjes) zou dan 2 à 3 maal zo groot moeten zijn voor de oxydatieproducten als voor phloroglucinol.

Tot nog toe werden de moleculen bolvormig opgevat (formule van STOKES voor de wrijving). Men zou hiertegen het bezwaar kunnen hebben, dat dit ook als benadering niet meer geldig zou kunnen zijn. Afwijkingen van de bolvorm zullen nl. tot gevolg hebben, dat de wrijving die het deeltje ondervindt relatief groter is dan in de wet van SUTHERLAND-EINSTEIN tot uiting komt; is de geringere diffusie-coëfficiënt van de oxydatieproducten soms erop terug te voeren, dat deze afwijkingen bij de oxydatieproducten sterker uitgesproken zijn dan bij phloroglucinol zelf? Bovendien zijn nog afwijkingen van het gedrag van een star, bolvormig lichaam (dat ten grondslag ligt aan formule (31)) te verwachten op grond van het feit, dat er een aantal bewegelijke punten in de moleculen aanwezig kunnen zijn.

Om de invloed van deze effecten te leren overzien, werd de berekening van de moleculaire dimensies uitgevoerd m.b.v. de formules, die PERRIN (141-142)

afleidde voor de wrijving, die niet-bolvormige deeltjes bij beweging ondervinden. We moeten dan wel een nieuwe variabele invoeren, nl. de verhouding der assen van het als regelmatige omwentelingsellipsoïde opgevatte deeltje; hetgeen betekent dat we tevens over een gegeven meer moeten beschikken; daar dit experimenteel niet beschikbaar is, moeten we omtrent één der assen of hun quotiënt een redelijke veronderstelling invoeren. Achteraf moet dan nog nagegaan worden, in welke richting het resultaat beïnvloed wordt doordat tot nog toe het deeltje als star is opgevat.

Deze werkwijze ligt in het onderhavige geval meer voor de hand dan uit te gaan van een aantal van elkaar practisch onafhankelijke ketenelementen en pas achteraf een correctie aan te brengen voor de onderlinge wisselwerking der elementen (zoals bij zeer lange ketens gebruikelijk is, zie (86)). Immers, verwacht mag worden dat de betrokken deeltjes voor het grootste deel uit benzeenkernen of misschien ook wel uit nog meer gecondenseerde ringsystemen zijn opgebouwd, dus betrekkelijk weinig bewegelijke punten per molecule zullen bevatten; de ketenelementen oefenen dan een sterke wisselwerking op elkaar uit.

Ter illustratie behandelen we eerst het voorbeeld van phloroglucinol, tevens als controle op de betrouwbaarheid der methode. Dit molecule vatten we op als omwentelingsellipsoïde met quotiënt $\frac{\text{aequatoriale diameter}}{\text{omwentelingsas}} > 1$, dus als een schijfvormig lichaam. Hiervoor geldt volgens PERRIN de formule:

$$\frac{D}{D_o} = \frac{q^{\frac{1}{2}}}{\sqrt{q^2 - 1}} \arctg \sqrt{q^2 - 1} \quad (34)$$

waarbij: D = diffusiecoëfficiënt van de ellipsoïde,
 D_o = diffusiecoëfficiënt van een bol met gelijk volume,
 q = verhouding $\frac{\text{aequatoriale diameter}}{\text{omwentelingsas}}$

Voert men nu een veronderstelling in omtrent de omwentelingsas, dan kan men met behulp van formule (34) q berekenen en hieruit de aequatoriale diameter. Voor de omwentelingsas vullen we in: $3,3\text{\AA}$, hetgeen de waarde is die op grond van gegevens uit (88) verwacht mag worden (nl. twee maal de v. d. WAALS-straal van een C-atoom).

Voor de berekening vullen we in (34) in:

$$D_o = \frac{kT}{6\pi\eta r} = \frac{kT}{6\pi\eta \sqrt[3]{a \cdot b^2}} \quad (35)$$

als a = halve omwentelingsas
 b = halve aequatoriale diameter
 immers dan is $r^3 = a \cdot b^2$

We krijgen:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta a \sqrt[3]{q^2}} \cdot \frac{\sqrt[3]{q^2}}{\sqrt{q^2 - 1}} \arctg \sqrt{q^2 - 1} \quad (36)$$

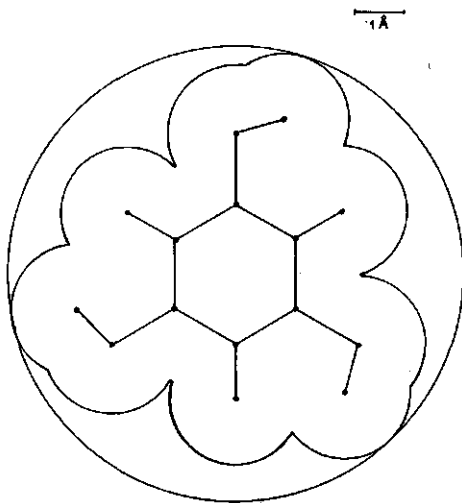
Vult men hier de waarden voor D , k , T , a en η in, dan krijgt men:

$$\frac{\arctg \sqrt{q^2 - 1}}{\sqrt{q^2 - 1}} = 0,495 \quad (37)$$

En met $q = 2,56$ wordt $\frac{\arctg \sqrt{q^2 - 1}}{\sqrt{q^2 - 1}} = 0,493$.

Hieruit volgt voor de aequatoriale diameter een waarde $8,4\text{\AA}$. Om deze uitkomst te toetsen aan de waarde, die op grond van de structuur van phloroglucinol verwacht mag worden, tekenen we een bovenaanzicht van het phloroglucinol-molecule op schaal:

FIG. 20. Boven-aanzicht van het phloroglucinol-molecule, berekend op grond van gegevens over intra-moleculaire afstanden uit (88). De grote cirkel is de omtrek van de ellipsoïde, in boven-aanzicht, zoals deze berekend wordt uit de diffusiecoëfficiënt.

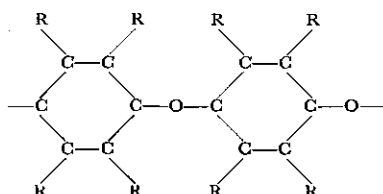


De overeenstemming is zeer behoorlijk. Merkwaardig is, dat de uit de diffusiecoëfficiënt berekende diameter eerder te groot dan te klein is, zoals men zou verwachten (zie pag. 36). Een overeenkomstige berekening voor hydrochinon, resorcinol en saligenine op grond van in de litteratuur bekende gegevens over diffusiecoëfficiënten toonde aan, dat bij deze stoffen de berekende afmetingen meer aan de kleine kant zijn. Misschien is bij phloroglucinol een zekere mate van associatie in het spel (ROUYER (163) vond deze echter niet, althans niet bij $100\text{ }^{\circ}\text{C}$; zie ook de moleculairgewichtsbepaling, vermeld op pag. 37), of ook de tautomerie met tri-keto-cyclohexaan.

Met dit resultaat keren we terug tot de oxydatieproducten. Hier gaat het erom, te onderzoeken of afwijkingen van de bolvorm van het molecule invloed hebben op de boven uitgesproken conclusie, dat de afmetingen van een molecule oxydatieproduct gemiddeld groter zijn dan die van een molecule phloroglucinol.

Laten we nu eens veronderstellen, dat het molecule zo langwerpig is als verenigbaar is met de te verwachten chemische structuur: een aantal benzeenkernen achter elkaar, met elkaar verbonden door C-O-C-bruggen (evenals door FLAIG by hydrochinon geconstateerd (60)). De aanwezigheid van zijketens (restanten van door oxydatie opengesplitste benzeenkernen) is niet waarschijnlijk, daar bij potentiometrische titratie geen COOH-groepen gevonden worden; dat zou nl. de meest voor de hand liggende afsluiting van een dergelijke zijketen zijn. Een C-C-brug, die zeker niet uitgesloten mag worden, zou een meer compacte bouw van het molecule tot gevolg hebben, evenals de aanwezigheid van meer gecondenseerde ringsystemen.

Laten we nu, om het molecule zo langwerpig mogelijk te maken, verder nog veronderstellen dat de C-O-C-bruggen para-standig t.o.v. elkaar zijn, en dat de kernen in elkaars verlengde liggen. Het molecule gaat er dan a.v. uitzien:



waarbij R -H, -OH of = O kan zijn.

Om een redelijke veronderstelling in te kunnen voeren omtrent de afmetingen van een dergelijk molecule, moeten we weer teruggrijpen naar (88). Voor de breedte berekent men ongeveer $7,5\text{\AA}$; de hoogte is veel kleiner, doch de ringen liggen niet in één vlak, zodat we daarvoor $5,2\text{\AA}$ moeten rekenen. Om de formules van PERRIN te kunnen toepassen, benaderen we dit molecule als een regelmatige omwentelingsellipsoïde met aequatoriale diameter = $6\text{\AA}$ (ongeveer het meetkundig gemiddelde tussen hoogte en breedte). Nu is het quotient

$\frac{\text{aequatoriale diameter}}{\text{omwentelingsas}} < 1$, zodat we volgens PERRIN nu de formule

$$\frac{D}{D_0} = \frac{\sqrt[3]{q^2}}{\sqrt{1-q^2}} \ln \frac{1 + \sqrt{1-q^2}}{q} \quad (38)$$

moeten gebruiken. Hieruit volgt:

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta b} \frac{q}{\sqrt{1-q^2}} \ln \frac{1 + \sqrt{1-q^2}}{q} \quad (39)$$

waarbij b weer de halve aequatoriale diameter is. Vult men in (39) voor $b = 3\text{\AA}$, en voor $D = 0,48 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{sec}^{-1}$ in, dan volgt $q = 0,378$, waaruit men voor de lengte van het molecule $16\text{\AA}$ berekent, hetgeen (evenals de waarde voor r volgens SUTHERLAND-EINSTEIN) op een 2 à 3 benzeenkernen per molecule wijst.

Evenmin brengt de overweging, dat de moleculen niet star zijn, doch uit een aantal t.o.v. elkaar bewegelijke punten bestaan, het boven geformuleerde resultaat in gevaar. Immers, hierdoor zal de wrijving, die het molecule ondervindt, eerder af- dan toenemen, zodat we op die manier de afmetingen van het molecule eerder zullen onder- dan overschatten; dit effect zal bij het behoorlijk compact gebouwde phloroglucinol minder sterk tot uitdrukking komen dan bij de oxydatieproducten, waar er meer kans op bewegelijke bindingen is.

In dezelfde richting zijn, volgens HERZOG c.s. (89-90), POLSON (147) en RIEHL c.s. (161) afwijkingen van de wet van SUTHERLAND-EINSTEIN te verwachten t.g.v. het feit, dat de moleculen opgeloste stof niet zeer veel groter zijn dan de moleculen oplosmiddel, maar in dezelfde orde van grootte liggen. De conclusie, dat sommige van de oxydatieproducten van phloroglucinol uit een aantal benzeenkernen opgebouwd zijn, wordt er dus niet door aangetast.

De waarde, uit de diffusiecoëfficiënt voor de moleculaire dimensies afgeleid, is uiteraard slechts een gemiddelde waarde, daar nog geen scheiding der oxydatieproducten heeft plaatsgevonden. De gemiddelde afmetingen der moleculen oxydatieproduct moeten echter nog hoger liggen dan in deze proeven tot uitdrukking kan komen: bij het mengsel van oxydatieproducten is nl. nog een aanzienlijke hoeveelheid onomgezet phloroglucinol aangetoond, op de volgende manier:

Ongeveer 50 ml iso-amylalcohol-oplossing werden drooggedampt in een

vacuum-exsiccator boven geconcentreerd H_2SO_4 . Het residu werd met kokende xyleen behandeld, waarbij een gedeelte van het residu oploste. Bij afkoelen kristalliseerde uit de xyleen een stof die na herhaalde omkristallisaties uit xyleen en uit water identiek bleek te zijn met phloroglucinol. De identiteitsbepaling berust op het UV-absorptiespectrum, kristalwatergehalte (gevonden 22,7 %, berekend 22,2 %), moleculairgewichtsbepaling m.b.v. vriespuntsdaling in waterige oplossing (gevonden 170, berekend 162), smeltpunt en mengsmeltpunt met zuiver phloroglucinol (geïsoleerd product ongecorr. 210 °C, phloroglucinol 213 °C, mengsmeltpunt 212 °C, hetgeen een behoorlijke overeenstemming is gezien de sterke beïnvloeding van het smeltpunt door verontreinigingen (13)).

HOOFDSTUK V

SCHEIDING VAN HET MENGSEL VAN REACTIEPRODUCTEN

De resultaten van het vorige hoofdstuk doen de wens ontstaan, een scheiding van de componenten van het reactiemengsel tot stand te brengen, om te onderzoeken wat dan wel de eigenschappen zijn van de oxydatieproducten, zonder dat zij vergezeld zijn van onomgezet phloroglucinol.

Wanneer men niet let op de veranderingen, die de reactieproducten tijdens droogdampen kunnen ondergaan, dan is b.v. het phloroglucinol van de overige producten te scheiden door de iso-amylalcohol-oplossing, waar in het vorige hoofdstuk mee gewerkt werd, droog te dampen en het residu met xyleen te extraheren (waar phloroglucinol weinig, de oxydatieproducten echter nog veel minder in oplosbaar zijn), bij voorkeur in een SOXHLET-extractie-apparaat, tot dat een kleurreactie met vanilline-HCl negatief is. Op deze wijze werd een amorphe, zeer donker bruin gekleurde stof verkregen.

Wil men echter de hierbij optredende kans op verdere reactie der oxydatieproducten vermijden, dan komen vooral in aanmerking methoden als chromatographie en electrophorese. In dit hoofdstuk nu worden deze mogelijkheden besproken.

SCHEIDING MET BEHULP VAN PAPIERCHROMATOGRAPHIE

Een paar ml iso-amylalcohol-oplossing van het mengsel van oxydatieproducten, verkregen als in het vorige hoofdstuk beschreven, werden in een streep op een vel filtreerpapier „TVN 47/58”¹ gebracht, daarna werd het chromatogram ontwikkeld m.b.v. iso-amylalcohol (verzadigd met water) als mobiele fase. Men krijgt figuur 21 (zie blz. 38).

In zichtbaar licht is slechts band b (bruin) zichtbaar; de gekleurde oxydatieproducten bewegen blijkbaar niet, of slechts zeer langzaam bij een dergelijke proef. Laat men op het filtreerpapier UV-licht vallen, dan is band b goed, band a zwak zichtbaar. Band a geeft duidelijk een rode kleurreactie met vanilline-HCl, en kan dus met het onomgezette phloroglucinol geïdentificeerd worden, dat volgens de resultaten van het vorige hoofdstuk nog in het mengsel aanwezig is. Een blancoproef met phloroglucinol werd niet verricht, wel stemde de R_F -waarde overeen met literatuurgegevens (113). Band b geeft deze reactie helemaal niet, hetgeen tot op zekere hoogte een steun is voor de in hoofdstuk 3a gevolgde procedure ter bepaling van de phloroglucinol-concentratie tijdens de reactie (zie pag. 22).

¹ Van de N.V. Papierfabriek v/h G. SCHUT & ZONEN, Heelsum.

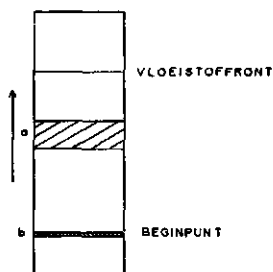


FIG. 21. Schematische weergave van een chromatogram.

Met ammoniakale zilveroplossing gaf band a goed, band b zwak zwartkleuring.

Bij zeer langdurige ontwikkeling van het chromatogram is band b nog in 3 componenten te splitsen, waarvan er een praktisch helemaal niet loopt, de twee anderen langzaam. Vluggen daarentegen gaat deze scheiding m.b.v. papier-electrophorese.

Een enkele proef werd ook uitgevoerd, om de mogelijkheid van scheiding op silicagel als adsorbens te onderzoeken. Qualitatief was het resultaat hierbij hetzelfde als bij papierchromatographie, een component, die een rode kleurreactie gaf met vanilline-HCl, liep vlugger dan de gekleurde oxydatieproducten. De scheiding was bij papierchromatographie echter beter.

SCHEIDING MET BEHULP VAN PAPIER-ELECTROPHORESE

De opstelling was zeer eenvoudig: figuur 22.

Een strook filterpapier TVN 47/58 van 4 à 5 cm breedte (lengte variërend van 6 tot 35 cm, al naar de gewenste veldsterkte) werd in 0,1 N NaOH gedrenkt, waaruit van te voren de opgeloste zuurstof door stikstof-doorleiden was verdreven. De strook werd vlug afgedroogd door deze tussen twee vellen filterpapier uit te persen, en vervolgens op een glazen plaat (A in figuur 22) gelegd waarvan de breedte groter, de lengte veel kleiner was dan die van de strook. De uitstekende einden van de strook werden in de bekgelazen D en E (figuur 22) geplaatst, en plaat A werd, om een horizontale ligging te verkrijgen, op een kristalliseerschale C gelegd. Op de strook filterpapier werd nu het te onderzoeken mengsel, in 0,1 N NaOH opgelost, gebracht (ophengtechniek: de methode van v. KAMPEN en ZONDAG (95), of ook: m.b.v. een nauw uitgetrokken capillair een streep oplossing op het papier brengen), vervolgens werd de glazen plaat B, van dezelfde afmetingen als plaat A, boven op de strook filterpapier gelegd, de bekgelazen D en E werden met 0,1 N NaOH gevuld, en Pt-electroden werden in de bekgelazen geplaatst. De bedoeling van het plaatsen van de strook filterpapier tussen twee glazen platen was, zoveel mogelijk de opname van zuurstof en CO₂ door de NaOH, waarmee de strook filterpapier gedrenkt was, tegen te gaan; wil dit enige zin hebben, dan dienen de handelingen na het afdrogen van de strook filterpapier zo snel mogelijk te geschieden. Zelfs dan sluit men uiteraard niet alle zuurstof en CO₂ uit.

De electrophorese vond plaats bij een potentiaalverschil van ongeveer 220 V tussen de Pt-electroden; de stroomsterkte varieerde van een paar tiende tot een paar tientallen mA, de duur van een paar minuten (bij grote veldsterkte) tot een paar uur.

Als controle op de opstelling werden drie scheidingen van bekende componenten uitgevoerd: phenol-phloroglucinol, phloroglucinol-phenolphthaleïne, en phenolphthaleïne-1-amino-2-naphthol-4-sulfonzuur. In alle gevallen was de scheiding zodanig als op grond van de structuur der stoffen verwacht werd:

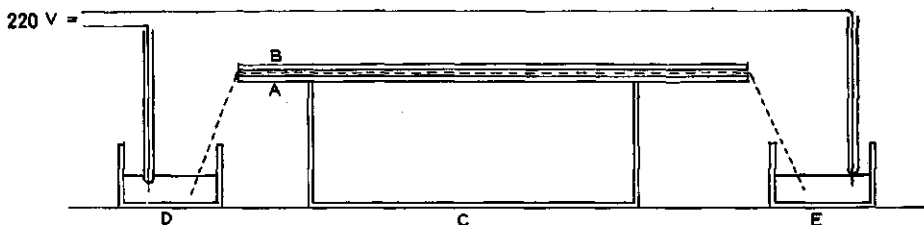


FIG. 22. Opstelling voor papier-electrophorese. De strook filterpapier is gestippeld.

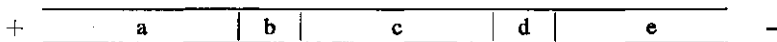
phloroglucinol liep vlugger dan phenol,
phloroglucinol liep vlugger dan phenolphthaleïne,
aminonaphthol-sulfonzuur liep vlugger dan phenolphthaleïne.

Voor meer quantitative resultaten, b.v. voor metingen der verhouding van de loopsnelheden der componenten, is de gebruikte opstelling te eenvoudig; vooral is de aanwezigheid van vloeistofstromingen in het papier storend. Desondanks was de verhouding der loopsnelheden, b.v. bij phloroglucinol-phenol, van de goede orde van grootte.

Te verwachten is immers, dat de electrophoresesnelheid voor bolvormige deeltjes in eerste benadering (waarbij de invloed der dubbellen verwaarloosd wordt) evenredig is met Q/r (als Q = lading en r = straal van het ion) (164). Bij de scheiding phloroglucinol-phenol zou men dan voor het quotiënt der electrophoresesnelheden 1,88 verwachten (gevonden: 1,6).

Immers, de onderzoeken van KOLTHOFF (99) en ABICHANDANI EN JATKAR (1) doen vermoeden, dat in 0,1 N NaOH twee der drie hydroxylgroepen van phloroglucinol gedissocieerd zijn, terwijl men voor de straal van phloroglucinol 3,2 Å berekent, voor die van phenol 3,0 Å (hierbij is gebruik gemaakt van de formules van PERRIN (141-142) en van waarden voor intramoleculaire afstanden uit (88); verondersteld wordt tevens, dat de ionen geen watermantel met zich mee slepen). Evenzo verwacht men, dat phenolphthaleïne langzamer zal lopen dan phloroglucinol en aminonaphtholsulfonzuur.

Om een indruk te krijgen van de grootte van de invloed der dubbellaag bij deze proeven volgen we de gedachten van ROBINSON EN STOKES (162). Hun formules kunnen echter niet exact toegepast worden, daar zij zich beperken tot oplossingen van één enkel zout, terwijl we hier te maken hebben met mengsels van zouten, omdat er steeds overmaat NaOH aanwezig zal zijn. Veronderstellen we deze overmaat afwezig, dan kunnen we de orde van grootte der correcties nog wel vinden; we overschatten de remeffecten bij electrophorese van meerwaardige ionen, daar we door deze veronderstelling een aantal eenwaardige OH-ionen vervangen denken door meerwaardige ionen. Schematisch kan de toestand, als de electrophorese een tijd aan de gang geweest is, a.v. worden weergegeven:



Bij a, c en e wordt 0,1 N NaOH, bij b 0,1 N $\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{O}_6$, bij d 0,1 N $\text{NaC}_6\text{H}_5\text{O}$ aanwezig gedacht. Men krijgt (162):

$$\frac{u_{\text{phl.gl.}}}{u_{\text{phenol}}} = \frac{u_{\text{phl.gl.}}^{\circ}}{u_{\text{phenol}}^{\circ}} \cdot \frac{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^{\circ}}\right)_{\text{phl.gl.}}}{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^{\circ}}\right)_{\text{phenol}}} \cdot \frac{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_{\text{phl.gl.}}}{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_{\text{phenol}}} \quad (40)$$

u° : bewegelijkheid der ionen bij oneindige verdunning. Voor phloroglucinol 51, voor phenol $27 \text{ cm}^2 \Omega^{-1} \text{ gaeq}^{-1}$ (berekend op grond van atoomafstanden).

Δu : correctie hierop t.g.v. „electrophoretische remming”.

ΔE : correctie op het electrisch veld t.g.v. het relaxatie-effect.

Met behulp van de behandeling der correcties van ROBINSON EN STOKES vindt men hieruit voor de verhouding der electrophoresesnelheden van phloroglucinol en phenol 1,73 (experimenteel 1,6).

Het mengsel van oxydatieproducten gedraagt zich bij papirelectrophorese als volgt:

Van de oxydatieproducten loopt het grootste deel (geelbruin gekleurd in alkalische oplossing, voortaan W genoemd) practisch even vlug als phloroglucinol, daarnaast zijn er nog twee componenten te zien, die veel langzamer lopen: X (roodachtig paars) en Y (bruin); deze laatste zijn slechts zeer zwak zichtbaar. Stelt men de electrophoresesnelheid van phloroglucinol gelijk aan 1, dan vindt men ongeveer:

$$\begin{aligned} u_w &= 0,9 \text{ à } 1,0 \\ u_x &= 0,6 \text{ à } 0,7 \\ u_y &= 0,2 \text{ à } 0,3 \end{aligned} \quad (41)$$

Deze verhoudingen werden ook in 0,01 N NaOH gevonden. De verhoudingen zijn slechts benaderd, daar met de gebruikte eenvoudige opstelling geen kwantitatieve resultaten verkregen kunnen worden.

Opvallend is, dat de oxydatieproducten langzamer lopen dan phloroglucinol. Dit wijst erop, dat bij de oxydatieproducten de ladingsdichtheid kleiner is dan bij phloroglucinol.

Om dit in te zien, beschouwen we het product W apart; we veronderstellen, dat dit verreweg het grootste deel der oxydatieproducten omvat. Eenvoudigheidshalve stellen we:

$$u_W = u_P \quad (42)$$

waarbij index P op phloroglucinol slaat. Laat men de invloed der dubbellen buiten beschouwing, dan volgt direct uit

$$(Q/r)_W = (Q/r)_P \quad (43)$$

indien we een ladingsdichtheid ρ (b.v. het gemiddeld aantal dissocieerbare OH-groepen per benzeenkern) invoeren:

$$Q = \frac{4}{3} \pi r^3 \cdot \rho \quad \frac{\rho_W}{\rho_P} = \frac{r_P^3}{r_W^3} < 1 \quad (44)$$

Tracht men na te gaan, of de invloed der dubbellen zo groot kan zijn dat deze conclusie in gevaar gebracht kan worden, dan schrijft men het best:

$$\frac{u_W}{u_P} = \frac{u_W^0}{u_P^0} \frac{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^0}\right)_W}{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^0}\right)_P} \frac{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_W}{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_P} = \frac{n_W \cdot r_P}{n_P \cdot r_W} \frac{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^0}\right)_W}{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^0}\right)_P} \frac{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_W}{\left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_P} = 1 \quad (45)$$

waarbij n het aantal ladingen is, dat één ion P resp. W draagt. We vullen in $n_P = 2$, $r_W/r_P = 1,3$ (uit de diffusiecoëfficiënt, zie pag. 36). Dan krijgen we:

$$n_W = \frac{2,2}{\left(1 + \frac{\Delta u}{u^0}\right)_W \left(1 + \frac{\Delta E}{E}\right)_W} \quad (46)$$

Exact op te lossen is dit niet, daar de noemer op een gecompliceerde wijze afhankelijk is van n_W . Berekening van de correctietermen volgens ROBINSON en STOKES voor een aantal waarden van n_W toont echter aan, dat n_W in de buurt van 3 ligt; de verhouding der ladingsdichtheden

$$\frac{\rho_W}{\rho_P} = \frac{n_W}{n_P} \cdot \frac{r_W^3}{r_P^3} \quad (47)$$

blijft dus kleiner dan 1.

Men kan zich afvragen, of dit resultaat niet beïnvloed wordt doordat tot nog toe de ionen als starre, bolvormige lichamen opgevat werden; voor de verhouding der stralen hebben we steeds de verhouding ingevuld, berekend uit de wet van STOKES. Ook deze vraag is niet exact te beantwoorden, daar de interpretatie der electrophoresesnelheid van niet-bolvormige lichamen op grote moeilijkheden stuit.

Voor deeltjes, die zeer klein zijn vergeleken bij de afmetingen van de dubbellaag (hetgeen bij onze proeven, althans diegenen ervan die in 0,01 N NaOH verricht werden, wel uitkomt, immers hier is λ van de orde 0,1–0,15) gaat evenwel de afleiding voor bolvormige deeltjes nog wel op (137). Ernstiger is, dat de deeltjes niet star zijn. Verwaarloost men als eerste benadering de invloed der dubbellen, dan kan men stellen:

$$u = \frac{Q \cdot E}{f} \quad (48)$$

f = wrijving.

De wrijving zal voor een keten, bestaande uit volledig van elkaar onafhankelijke schakels, evenredig zijn met het volume V , door onderlinge beïnvloeding der schakels echter minder dan evenredig met V (86); voor starre, bolvormige lichamen b.v. evenredig met $\sqrt[3]{V}$.

Vult men nu in: $Q = \rho \cdot V$, dan krijgt men voor de verhouding der electrophoresesnelheden:

$$\frac{u_P}{u_W} = \frac{\rho_P \cdot V_P \cdot f_W}{\rho_W \cdot V_W \cdot f_P} \quad (49)$$

Uit (45) volgt, dat dit quotiënt ongeveer gelijk 1 is.

Nu is de wrijving, die W ondervindt, sterker dan de wrijving die P ondervindt (hetgeen uit de diffusieproeven volgt), evenwel neemt de wrijving minder toe dan evenredig met V , zodat men kan schrijven:

$$\frac{\rho_P}{\rho_W} = \frac{V_W \cdot f_P}{V_P \cdot f_W} > 1 \quad (50)$$

Daarnaast kan men zich nog afvragen, of de aanwezigheid van het filtreerpapier niet invloed kan uitoefenen op de electrophoretische scheiding, doordat een der componenten er b.v. sterker door wordt vertraagd dan een ander. Dit bleek echter niet het geval te zijn: bij een poging tot papierchromatographie van de oplossing der oxydatieproducten in loog bleek, dat de producten allen even vlug liepen als het vloeistoffront.

SAMENVATTING DER RESULTATEN VAN DIT HOOFDSTUK

Chromatographisch is gemakkelijk onomgezet phloroglucinol van de oxydatieproducten te scheiden, deze laatsten onderling echter slechts moeilijk; electrophoretisch zijn de oxydatieproducten gemakkelijk van elkaar te scheiden, de voornaamste fractie ervan echter slechts moeilijk van phloroglucinol.

De scheidingen werden tot nog toe op micro-schaal uitgevoerd, zodat nog geen gegevens beschikbaar zijn over de eigenschappen der afzonderlijke producten. Wel wijst het feit, dat bij electrophorese alle oxydatieproducten langzamer lopen dan phloroglucinol, erop, dat de ladingsdichtheid bij de oxydatieproducten geringer is dan bij phloroglucinol.

HOOFDSTUK VI

VERGELIJKING VAN DE IN DIT ONDERZOEK BEREIKTE RESULTATEN MET IN DE NATUUR OPTREDENDE REACTIES

Wil men een vergelijking trekken tussen de resultaten van dit onderzoek en in de natuur bij humificering optredende reacties, dan dient men zeer voorzichtig te werk te gaan. Het gebruikte systeem wijkt nl. nog zeer sterk af van hetgeen men in de natuur kan verwachten: phloroglucinol staat misschien in zoverre wat dichter dan het vaak als model gebruikte hydrochinon bij het merendeel der in de natuur voorkomende phenolische lichamen, dat hier chinonen niet een overheersende rol als min of meer stabiele tussenproducten kunnen spelen als bij hydrochinon, een feit blijft dat phloroglucinol zelf slechts in geringe hoeveelheden in de grond terechtkomt (zie pag. 6). De condities die in dit onderzoek werden toegepast lijken wat meer op natuurlijke omstandigheden dan de sterk alkalische of ammoniakale oplossingen, door anderen gebruikt; wat betreft het oxydans sluit $\text{Fe}(\text{CN})_6^{--}$ minder goed aan bij de natuur dan zuurstof, al dient men ook in de natuur de mogelijkheid van oxydaties door b.v. Fe^{+++} -ionen niet uit te sluiten. Ook het feit, dat men in de grond met een heterogeen systeem te maken heeft, kan van invloed zijn; nog ernstiger beïnvloedt de geldigheid van onze resultaten misschien de overweging, dat de in de natuur optredende reacties voor een groot deel biochemisch zullen verlopen.

Ondanks deze bezwaren is het mogelijk, een zekere analogie tussen ons sys-

teem en de humificering te constateren: dat er bij de chemische oxydatie van phloroglucinol in neutrale oplossing in aanwezigheid van aminozuren stikstofhoudende, bruine producten ontstaan, oplosbaar in neutrale en alkalische oplossingen, hieruit echter precipiteerbaar door toevoegen van HCl, volgt b.v. uit de oriënterende proeven beschreven op pag. 6 evg.

Dit onderzoek constateerde voorts het ontstaan van vrije radicalen, doordat een betrekkelijk mild oxydatiemiddel als $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ op een phenol inwerkt; bij de in de grond voorkomende processen is dit, voor zover ons bekend, nog nooit geconstateerd, het verdient echter aanbeveling hieraan wat meer aandacht te besteden dan aan de in de normale modelvoorstellingen gebruikte chinonen; immers, in de natuur heeft men voornamelijk te maken met guajacol- of syringinekeren, en mochten deze geoxydeerd worden voordat de methoxygroepen door hydrolyse omgezet zijn in hydroxylgroepen, dan denkt men eerder aan vrije radicalen als tussenproducten dan aan chinonen.

Ook STACH (177) komt b.v. op grond van zijn proeven over afbraak van humusstoffen tot de voorstelling, dat een guajacol-achtige structuur geoxydeerd kan worden, waarbij dan, evenals in dit onderzoek geconstateerd werd, een vermindering van het aantal hydroxylgroepen optreedt.

Interessant is ook een vergelijking te trekken tussen het resultaat, aan het einde van hoofdstuk 5 geformuleerd (dat nl. het aantal in 0,1 N NaOH dissocieerbare hydroxylgroepen per benzeenkern bij de oxydatieproducten geringer is dan bij phloroglucinol zelf), en in de natuur waargenomen humificeringsverschijnselen. Enigszins betrouwbare gegevens over het aantal phenolische hydroxylgroepen zijn echter nog maar in een beperkt aantal gevallen beschikbaar, voornamelijk doordat een groot aantal onderzoekers bij het onderzoek van organische stof in de grond in navolging van WAKSMAN (189-190) hun aandacht uitsluitend gevestigd hadden op scheiding van het monster in stofgroepen (vetten, lignineachtige stoffen e.d.) en geen analyse op functionele groepen toepasten. Ook gegevens over de uitwisselcapaciteit van de organische stoffen voor basen kunnen niet veel inlichtingen over het aantal hydroxylgroepen geven, daar hier ook b.v. carboxylgroepen aan meedoen; bovendien is door KUKHARENKO (106) geconstateerd, dat sommige hydroxylgroepen een aantal metalen wel, andere daarentegen niet binden, hetgeen de betrouwbaarheid van de uitwisselcapaciteit als gegeven omtrent de structuur vermindert.

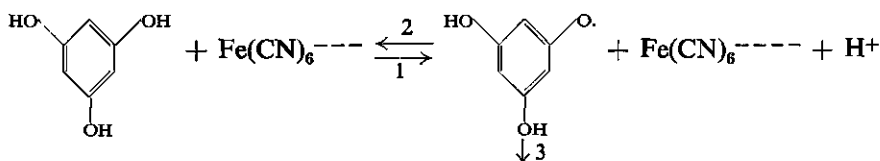
Het onderzoek van MATTSON en KOUTLER-ANDERSSON (120-123) echter biedt meer houvast: m.b.v. potentiometrische titraties van plantenafval al dan niet in gehumificeerde toestand constateerden zij, dat de buffercapaciteit in het gebied $\text{pH} < 7$ toe-, in het gebied $7 < \text{pH} < 10$ daarentegen afneemt, zowel bij autoxydatie als bij humificering. Weliswaar zou het wat onvoorzichtig zijn, deze twee grootheden eenvoudig met het aantal carboxyl- resp. phenolische hydroxylgroepen te vereenzelvigen, hun resultaat is echter enigszins een bevestiging van de in dit onderzoek bereikte resultaten.

Een overeenkomstige conclusie kan men trekken uit het werk van FORSYTH (70-71) en KUKHARENKO (107). Beiden analyseerden plantaardig materiaal in verschillende stadia van ontleding op methoxyl-, carboxyl- en phenolisch hydroxylgehalte. Ook de door hen gevolgde methode biedt geen volstrekte zekerheid over de juistheid van de identificatie van het aantal methyleerbare groepen met $\text{COOH} + \text{phen-OH}$, en van het aantal hydrolyseerbare groepen daarvan met COOH ; toch is het door hen gevonden resultaat interessant: beiden vinden, dat bij ouder worden van het plantenafval het aantal methoxylgroepen afneemt;

ten gevolge daarvan zou het hydroxylgehalte moeten toenemen (bovendien kunnen natuurlijk ook andere dan methoxylgroepen bij hydrolyse phenolische OH-groepen doen ontstaan). Dit gebeurt ook, deze toename is echter veel geringer dan de vermindering in methoxylgehalte, zodat een aantal hydroxylgroepen inmiddels verdwenen moet zijn. Aldus wordt het gehalte aan hydroxyl het resultaat van twee elkaar tegenwerkende factoren; de in dit onderzoek verkregen resultaten suggereren, dat voor de vermindering van het aantal hydroxylgroepen zuiver chemische oxydatie aansprakelijk kan zijn (hetgeen uiteraard de mogelijkheid van biochemische reacties geenszins uitsluit).

SAMENVATTING

1. De oxydatie van phloroglucinol door $K_3Fe(CN)_6$ in neutrale waterige oplossing wordt onderzocht ter bestudering van een aantal problemen der humificering, t.w. het mechanisme van de oxydatie der in de grond terechtkomende phenolische stoffen en van de vorming van hogermoleculaire stoffen hierbij. Van de gebruikelijke modelstoffen als hydrochinon onderscheidt phloroglucinol zich, doordat bij dit laatste (evenmin als bij vele in de natuur voorkomende phenolen) niet gemakkelijk een chinon als tussenproduct kan ontstaan.
2. De kinetiek der oxydatie is in overeenstemming met de reeds door FIESER (58) uitgesproken voorstelling, dat er bij deze oxydatie vrije radicalen ontstaan. Het schema



met $k_1 = 68 \text{ l. min}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$. (pH = 6,94, temp. = 25 °C,
 $k_2/k_3 = 0,75 \cdot 10^5 \text{ l. mol}^{-1}$. $p = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ $o = 1,34 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

wordt door de metingen van dit onderzoek gesteund. k_3 is hierbij de snelheid van de totale afbraakreacties van het radicaal onder de gegeven omstandigheden. Volgens de kinetische metingen bestaat reactie 3 uit monomoleculaire reactie en oxydatie van het radicaal.

3. Hiermee in overeenstemming zijn ook gegevens over de stoichiometrie der oxydatie, nl. dat er bij het begin der oxydatie minstens evenveel phloroglucinol als $K_3Fe(CN)_6$ verbruikt wordt. Immers, dit sluit de mogelijkheid uit, dat een mol phloroglucinol door een aantal aeq $Fe(CN)_6^{--}$ geoxydeerd wordt tot b.v. een chinon, voordat de reversibele trap bereikt is.
4. Het ontstaan van vrije radicalen bij oxydatie van phloroglucinol door $K_3Fe(CN)_6$ in alkalisch- 70 % alcoholisch milieu is aangetoond door het initiëren van een polymerisatie van styreen.
5. Ook 2,4-dimethyl-phloroglucinol is bij oxydatie aan dezelfde kinetiek onderworpen als phloroglucinol zelf. De reactiesnelheidsconstanten zijn hier:

$$k_1 = 1,4 \cdot 10^3 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}.$$

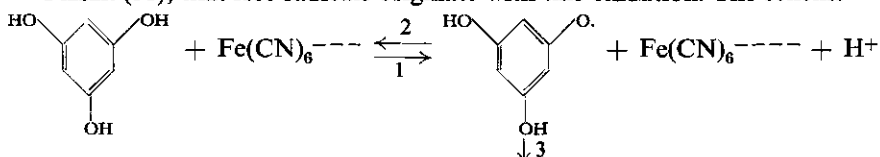
$$k_2/k_3 = 0,55 \cdot 10^5 \text{ l. mol}^{-1}.$$

(pH = 6,94, temp. = 25 °C, $o = 1,774 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[DMPG] = 0,709 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

6. Uit de diffusiecoëfficiënt van het mengsel van oxydatieproducten, ontstaande bij de beschouwde reactie, blijkt, dat er hoger moleculaire stoffen zijn ontstaan. De proeven werden zodanig uitgevoerd, dat het ontstaan van deze stoffen niet door verharsing tijdens droogdampen veroorzaakt kan zijn, zodat zij tijdens de oxydatie zelf moeten ontstaan.
7. Scheiding van het mengsel van oxydatieproducten is te bewerkstelligen door papierchromatographie (waarmee gemakkelijk onomgezet phloroglucinol verwijderd kan worden) en door papier-electrophorese (waarmee men een drietal componenten in het mengsel van oxydatieproducten kan herkennen). Bij electrophorese loopt de voornaamste component iets langzamer dan phloroglucinol, een tweetal in geringe concentratie aanwezige componenten loopt nog langzamer.
8. Op grond van de bestaande theorieën over electrophoresesnelheid mag men uit de onder 7 vermelde feiten de conclusie trekken, dat de ladingsdichtheid in 0,01 N NaOH bij de oxydatieproducten kleiner is dan bij phloroglucinol.
9. De resultaten van dit onderzoek suggereren, dat er bij het discussiëren van landbouwchemische reacties wat meer aandacht besteed dient te worden aan de mogelijkheid van het optreden van vrije radicalen. Tevens volgt uit dit onderzoek, dat het verdwijnen van phenolische hydroxylgroepen tijdens humificering, waargenomen door MATTSON en KOUTLER-ANDERSSON (120-123), FORSYTH (70-71) en KUKHARENKO (107) door zuiver chemische oxydatie veroorzaakt kan zijn.

SUMMARY

1. The oxidation of phloroglucinol by $K_3Fe(CN)_6$ in neutral solution in water has been investigated in order to study some problems of humification. Phloroglucinol differs from the usual model compounds like hydroquinone because with the former a quinone as an intermediate is not likely to originate, no more than with many phenols occurring in nature.
2. The kinetics of the oxidation harmonize with the idea, expressed already by FIESER (58), that free radicals originate with this oxidation. The scheme



with $k_1 = 68 \text{ l. min}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$, $\text{pH} = 6,94$, $\text{temp.} = 25^\circ\text{C}$,
 $k_2/k_3 = 0,75 \cdot 10^5 \text{ l. mol}^{-1}$, $o = 1,34 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $p = 1,60 \cdot 10^{-4} \text{ M}$

is being supported by the measurements of this investigation. k_3 is here the velocity of the overall decomposition reaction of the radical under the conditions mentioned. According to the kinetic experiments, reaction 3 consists of monomolecular reaction and of oxidation of the radical.

3. Data about the stoichiometry of the oxidation are also in agreement with this mechanism, for at the beginning of the reaction there is used as much phloroglucinol as $K_3Fe(CN)_6$. This excludes the possibility that one mole phloroglucinol is oxidised to f.i. a quinone by a number of equivalents $Fe(CN)_6^{--}$ before the reversible oxidation stage is reached.
4. The formation of free radicals with the oxidation of phloroglucinol by

$K_3Fe(CN)_6$ in alkaline- 70% alcoholic solution has been demonstrated by initiating a polymerisation of styrene.

5. 2,4-dimethyl-phloroglucinol when oxidised is subjected to the same kinetics as phloroglucinol itself. Here the rate constants of the reaction are:

$$k_1 = 1,4 \cdot 10^8 \text{ l. min}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$k_2/k_3 = 0,55 \cdot 10^5 \text{ l. mol}^{-1}$$

(pH = 6,94, temp. = 25°C, $\sigma = 1,774 \cdot 10^{-4} \text{ M}$, $[DMPG] = 0,709 \cdot 10^{-4} \text{ M}$)

6. It is apparent from the diffusion coefficient of the mixture of oxidation products, originating in the reaction concerned, that higher molecular compounds have been formed. The experiments were carried out in such a way that the formation of these compounds could not have been caused by resinification during drying, so that they must originate from the oxidation itself.
7. The separation of the mixture of oxidation products is accomplished by paper chromatography (unconverted phloroglucinol can easily be removed in this way) and by paper electrophoresis (one is able to recognize hereby three components of the mixture). With electrophoresis the main component runs a little slower than phloroglucinol, two components present in small concentration run still slower.
8. On the basis of existing theories about velocity of electrophoresis one may conclude from the facts mentioned under 7, that the density of charge in 0,01 N NaOH is smaller in the oxidation products than in phloroglucinol.
9. The results of these experiments suggest, that in discussing agricultural-chemical reactions more attention should be paid to the possibility of the appearance of free radicals. It follows also from this investigation that the disappearance of phenolic hydroxyl-groups during the humification, observed by MATTSON and KOUTLER-ANDERSSON (120-123), FORSYTH (70-71) and KUKHARENKO (107) may be caused by purely chemical oxidations.

LITTERATUUR

1. C. T. ABICHANDANI en S. K. K. JATKAR, J. Indian Inst. Science **21A**, 417 (1938).
2. M. ABRIBAT, Sci. ind. phot. (2) **1**, 1(1930); C.A. **24**, 5244 (1930).
3. G. F. D'ALELIO, Fundamental Principles of Polymerization, J. Wiley & Sons Inc. (New York), Chapman & Hall Ltd. (London), pag. 409 (1952).
4. A. E. ALEXANDER en P. JOHNSON, Colloid Science I pag. 242, Oxford University Press 1949.
5. A. E. ALEXANDER en P. JOHNSON, ib. pag. 300.
6. „Anal. Standards for Laboratory Chemicals” pag. 173, Brit. Drug Houses Ltd en Hopkins & Williams Ltd, London, 2nd Ed. 1937.
7. C. L. ARNOLD, A. LOWY en R. THIESSEN, Bur. Mines, Dep. Invest. **1934**, No. 3258; C.A. **29**, 1922 (1935).
8. R. G. R. BACON, Trans. Far. Soc. **42**, 144 (1946).
9. J. B. BARTLETT, Iowa State Coll. J. Sci. **14**, 11 (1939); C.A. **34**, 6065 (1940).
10. J. H. BAXENDALE, M. G. EVANS en G. S. PARK, Trans. Far. Soc. **42**, 155 (1946).
11. J. H. BAXENDALE en H. R. HARDY, Trans. Far. Soc. **49**, 1433 (1953).
12. J. H. BAXENDALE en H. R. HARDY, ib. **50**, 808 (1954).
13. A. v. BAYER, Ber. **19**, 2187 (1886).
14. R. BENEDIKT, Ann. **178**, 93 (1875).
15. E. BENNETT, Soil Sci. **55**, 427 (1943).
16. H. BEUTELSPACHER, Z. Pflanzenern. Düng. Bod. **57**, 57 (1952).
17. D. BÉZIER, Ann. de Chimie **20**, 161 (1945).
18. G. BLIX, Skand. Arch. f. Physiologie **56**, 135 (1929).
19. W. BONE, L. HORTON en ST. G. WARD, Proc. Roy. Soc. A **127**, 480 (1930).
20. M. BOTTERI, Ann. Triest. Cura Univ. Trieste sez. 2, **20**, 153 (1951); C.A. **46**, 7131 (1952).
21. J. M. BREMNER, J. Soil Sci. **5**, 214 (1954).

22. J. M. BREMNER en H. LEES, *J. Agr. Sci.* **39**, 274 (1949).
23. F. H. BROADBENT, *Adv. in Agronomy* **4**, 153 (1953).
24. B. L. BROWNING, W. W. PIGMAN, R. L. LEAF, G. STEINERT en J. WETHERN, *J. Am. Leather Chemists' Assoc.* **44**, 30 (1949).
25. H. R. BRUINS, *Kolloid-Z.* **54**, 272 (1931).
26. H. R. BRUINS, *ib.* **57**, 152 (1931).
27. H. R. BRUINS, *ib.* **59**, 263 (1932).
28. D. BIJL, H. KAINER en A. C. ROSE-INNES, *Nature* **174**, 830 (1954).
29. T. W. CAMPBELL en G. M. COPPINGER, *J. Am. Chem. Soc.* **73**, 2711 (1951).
30. C. D. COOK en R. C. WOODWORTH, *ib.* **75**, 6242 (1953).
31. A. CRITCHLOW, R. D. HAWORTH en P. L. PANSON, *J. Chem. Soc.* **1951**, 1318.
32. D. I. DAVIDSSON, F. J. SOWDEN en H. J. ATKINSON, *Soil Sci.* **71**, 347 (1951).
33. O. DIELS en R. KASSEBART, *Ann.* **530**, 51 (1937).
34. S. S. DRAGUNOV, N. N. ZHELOKHOVITSEVA en E. I. STRELKOVA, *Pochvovedenie* **1948**, 409; *C.A.* **43**, 3127 (1949).
35. A. Y. DRUMMOND en W. A. WATERS, *J. Chem. Soc.* **1953**, 2836, 3119.
36. A. Y. DRUMMOND en W. A. WATERS, *ib.* **1954**, 2456.
37. W. ELLER en K. KOCH, *Ber.* **53**, 1469 (1920).
38. W. ELLER, *Brennstoff-Chem.* **2**, 129 (1921).
39. W. ELLER, *ib.* **3**, 49 (1922).
40. W. ELLER, *Ann.* **431**, 133 (1923).
41. W. ELLER, H. MEYER en H. SAENGER, *ib.* **431**, 162 (1923).
42. W. ELLER, E. HERDIECKERHOFF en H. SAENGER, *ib.* **431**, 177 (1923).
43. W. ELLER, *ib.* **442**, 160 (1925).
44. W. ELLER, *Brennstoff-Chem.* **6**, 55 (1925).
45. C. ENDERS, *Biochem. Z.* **312**, 339 (1942).
46. C. ENDERS en S. SIGURDSSON, *ib.* **313**, 174 (1942).
47. C. ENDERS, *ib.* **313**, 352 (1942).
48. C. ENDERS, *ib.* **315**, 259 (1943).
49. C. ENDERS, *Die Chemie* **56**, 281 (1943).
50. C. ENDERS en S. SIGURDSSON, *Biochem. Z.* **318**, 44 (1947).
51. C. ENDERS, M. TSCHAPEK en R. GLAWE, *Kolloid-Z.* **110**, 240 (1948).
52. H. ERDTMAN, *Proc. Roy. Soc. London A* **143**, 177 (1933).
53. H. ERDTMAN, *Ann.* **505**, 195 (1933).
54. H. ERDTMAN, *ib.* **513**, 240 (1934).
55. M. G. EVANS, *J. Chem. Soc.* **1947**, 266.
56. G. C. ESH en S. S. GUHA-SIRCAR, *J. Indian Chem. Soc.* **17**, 326, 405 (1940); *C.A.* **35**, 1561 (1941).
57. I. C. FEUSTEL en H. G. BYERS, *Soil Sci.* **42**, 11 (1954).
58. L. F. FIESER, *J. Am. Chem. Soc.* **52**, 5204 (1930).
59. F. FISCHER en H. SCHRADER, *Brennstoff-Chem.* **3**, 65 (1922).
60. W. FLAIG, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **51**, 193 (1950).
61. W. FLAIG en H. BEUTELSPACHER, *ib.* **52**, 1 (1951).
62. W. FLAIG, E. KÜSTER, G. SEGGER-HOLZWEISSIG en H. BEUTELSPACHER, *ib.* **57**, 42 (1952).
63. W. FLAIG en H. SCHULZE, *ib.* **58**, 59 (1952).
64. W. FLAIG en H. BEUTELSPACHER, *Landbouwk. Tijdschr.* **66**, 306 (1954).
65. W. FLAIG, H. OTTO, E. KÜSTER en K. REINEMUND, *ib.* **66**, 365 (1954).
66. W. FLAIG, H. SCHULZE, E. KÜSTER en H. BIERGANS, *ib.* **66**, 402 (1954).
67. W. FLAIG en K. REINEMUND, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **68**, 255, 269 (1955).
68. W. FLAIG en E. SAALBACH, *ib.* **71**, 208, 215 (1955).
69. W. FLAIG en E. SAALBACH, *ib.* **72**, 1, 7, (1956).
70. W. G. C. FORSYTH, *Biochem. J.* **41**, 176 (1947).
71. W. G. C. FORSYTH, *J. Agric. Sci.* **37**, 132 (1947).
72. W. FUCHS, *Brennstoff-Chem.* **9**, 178 (1928).
73. W. FUCHS en W. STENGEL, *Brennstoff-Chem.* **10**, 303 (1929).
74. W. FUCHS en O. HORN, *Brennstoff-Chem.* **11**, 372 (1930).
75. L. GABROWSKI, *Ber.* **36**, 1217 (1903).
76. L. GATTERMANN-H. WIELAND, *Die Praxis des organischen Chemikers*, 33ste druk, pag. 41; W. de Gruyter (Berlijn) 1948.
77. W. S. GILLAM, *Soil Sci.* **49**, 433 (1940).
78. ST. GOLDSCHMIDT, *Ber.* **55**, 3194 (1922).
79. ST. GOLDSCHMIDT en W. SCHMIDT, *Ber.* **55**, 3197 (1922).
80. ST. GOLDSCHMIDT en CHR. STEIGERWALD, *Ann.* **438**, 202 (1924).

81. ST. GOLDSCHMIDT, A. VOGT en M. A. BREDIG, *Ann.* **445**, 123 (1925).
82. ST. GOLDSCHMIDT, E. SCHULZ en H. BERNARD, *Ann.* **478**, 1 (1936).
83. S. GOTTLIEB en S. B. HENDRIKS, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **10**, 117 (1945).
84. J. F. HEDENBURG en H. FREISER, *Anal. Chem.* **25**, 1355 (1953).
85. F. HEINRICH, *Sitz. ber. physik. med. Soz. Erlangen* **71**, 199 (1939).
86. J. J. HERMANS in H. R. KRUYT, *Colloid Science II*, pag. 93 evgg, Elsevier 1949.
87. J. J. HERMANS en P. H. HERMANS, *ib.* pag. 136.
88. P. H. HERMANS, *Inleiding tot de Theoretische Organische Chemie*, Elsevier 1952.
89. R. O. HERZOG, R. ILLIG en H. KUDAR, *Z. physik. Chem A* **167**, 329 (1933).
90. R. O. HERZOG en H. KUDAR, *Z. Physik* **80**, 217 (1933).
91. H. HLASIWETZ, *Ann.* **119**, 200 (1861).
92. Ed. HOFFMANN, *Ber.* **9**, 688 (1876).
93. R. H. HOSKINS en B. R. LOY, *J. Chem. Phys.* **23**, 2461 (1955).
94. T. IMASAKI, *J. Chem. Soc. Japan* **63**, 288 (1942).
95. E. J. VAN KAMPEN en H. A. ZONDAG, *Chem. Weekblad* **51**, 535 (1955).
96. B. C. KAR, *J. Indian Chem. Soc.* **14**, 381 (1937).
97. P. KARRER, *Organic Chemistry*, Elsevier 1947 (3rd English Ed.) pag. 428.
98. B. KISCH, *Biochem. Z.* **249**, 63 (1932).
99. I. M. KOLTHOFF, *Z. anorg. Chem.* **112**, 187 (1920).
100. M. M. KONONOVA, *Pochvovedenie* **6**, 27 (1943); *C.A.* **38**, 607 (1944).
101. M. M. KONONOVA, *ib.* **7**, 18 (1943); *C.A.* **38**, 1827 (1944).
102. M. M. KONONOVA, *ib.* **10**, 456 (1944); *C.A.* **39**, 4180 (1945).
103. M. M. KONONOVA en N. P. BELCHIKOVA, *ib.* **1946**, 529; *C.A.* **41**, 1787 (1947).
104. M. M. KONONOVA en I. V. ALEKSANDROVA, *Mikrobiologiya* **18**, 42 (1949); *C.A.* **43**, 6700 (1949).
105. M. M. KONONOVA, *ib.* **18**, 132 (1949); *C.A.* **43**, 7085 (1949).
106. T. A. KUKHARENKO, *Zhur. Prikl. Khim.* **21**, 126 (1948); *C.A.* **45**, 2932 (1951).
107. T. A. KUKHARENKO, *Doklady Akad. Nauk SSSR* **72**, 907 (1950); *C.A.* **44**, 9147 (1950).
108. T. A. KUKHARENKO en A. S. SAVELEV, *ib.* **76**, 77 (1951); *C.A.* **45**, 8451 (1951).
109. T. A. KUKHARENKO en A. S. SAVELEV, *ib.* **86**, 729 (1952); *C.A.* **47**, 8037 (1953).
110. E. KÜSTER, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **57**, 51 (1952).
111. H. LABHARD, W. LOTMAR en P. SCHMID, *Helv.* **34**, 2449 (1951).
112. W. H. LANE, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* **18**, 295 (1946).
113. E. LEDERER en M. LEDERER, *Chromatography*, Elsevier 1954, pag. 110.
114. O. LINDT, *Z. anal. Chem.* **26**, 260 (1887).
115. J. E. LUVALLE en A. WEISSBERGER, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 1567 (1947).
116. J. E. LUVALLE en A. WEISSBERGER, *ib.* **69**, 1821 (1947).
117. C. MACLEAN, *particuliere mededeling*.
118. S. M. MANSKAYA, M. S. BARDINSKAYA en M. N. KOCHNEVA, *Doklady Akad. Nauk SSSR* **76**, 707 (1951); *C.A.* **45**, 6132 (1951).
119. J. MARSHALL, *J. Ind. Eng. Chem.* **12**, 248 (1920).
120. S. MATTSON en E. KOUTLER-ANDERSSON, *Lantbruks Högskolens Ann.* **10**, 284 (1942); *C.A.* **39**, 146 (1945).
121. S. MATTSON en E. KOUTLER-ANDERSSON, *ib.* **11**, 107 (1943); *C.A.* **39**, 2365 (1945).
122. S. MATTSON en E. KOUTLER-ANDERSSON, *ib.* **11**, 207 (1943); *C.A.* **39**, 2307 (1945).
123. S. MATTSON en E. KOUTLER-ANDERSSON, *ib.* **12**, 70 (1944-45); *C.A.* **39**, 3869 (1945).
124. L. MICHAELIS en E. S. FETCHER, *J. Am. Chem. Soc.* **59**, 2460 (1937).
125. L. MICHAELIS en M. P. SCHUBERT, *J. Biol. Chem.* **119**, 133 (1937).
126. L. MICHAELIS, G. F. BOEKER en R. K. REBER, *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 202 (1938).
127. L. MICHAELIS, R. K. REBER en J. A. KUCK, *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 214 (1938).
128. L. MICHAELIS, M. P. SCHUBERT, R. K. REBER, J. A. KUCK en S. GRANICK, *ib.* **60**, 1678 (1938).
129. „Microwave and Radiofrequency Spectroscopy”, *Disc. Far. Soc.* **19**, (1955).
130. J. MILBAUER en A. NEMEC, *J. Prakt. Chem.* (2) **99**, 99 (1919).
131. H. C. MILLAR, F. B. SMITH en P. E. BROWN, *J. Am. Soc. Agron.* **28**, 753 (1936).
132. E. MÜLLER en K. LEY, *Z. Naturforsch.* **8b**, 694 (1953).
133. E. MÜLLER, K. LEY en W. KIEDAISCH, *Chem. Ber.* **87**, 922, 1605 (1954).
134. E. MÜLLER en K. LEY, *Chem. Ber.* **88**, 601 (1955).
135. H. MÜLLER, *Kolloid.-Beih.* **26**, 257 (1928).
136. N. A. ORLOV, V. V. TISHCHENKO en E. M. TARASENKOVA, *J. Applied Chem. USSR* **8**, 501 (1935); *C.A.* **30**, 1541 (1936).
137. J. TH. G. OVERBEEK, *Adv. Coll. Sci.* **3**, 97 (1950).
138. G. E. PAKE, S. I. WEISSMANN en J. TOWNSEND, *Disc. Far. Soc.* **19**, 147 (1955).

139. H. PALLMANN, *Kolloid Z.* **101**, 72 (1942).
140. D. E. PENNINGTON en D. M. RITTER, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 187 (1947).
141. F. PERRIN, *J. Phys. Rad.* (7) **5**, 497 (1934).
142. F. PERRIN, *ib.* (7) **7**, 1 (1936).
143. O. v. PLOTTH, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **51**, 212 (1950).
144. O. v. PLOTTH, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **55**, 151 (1951).
145. J. POCHON en T. L. WANG, *Comptes rendus* **230**, 151 (1950).
146. J. POCHON en Y. T. TCHAN, *Rev. Gén. Bot.* **57**, 321 (1950).
147. A. POLSON, *J. Phys. & Coll. Chem.* **54**, 649 (1950).
148. R. PUMMERER en F. FRANKFURTER, *Ber.* **47**, 1472 (1914).
149. R. PUMMERER en E. CHERBULIEZ, *Ber.* **47**, 2957 (1914).
150. R. PUMMERER en E. CHERBULIEZ, *ib.* **52**, 1392 (1919).
151. R. PUMMERER, *ib.* **52**, 1403 (1919).
152. R. PUMMERER en E. CHERBULIEZ, *ib.* **52**, 1414 (1919).
153. R. PUMMERER en F. FRANKFURTER, *ib.* **52**, 1416 (1919).
154. R. PUMMERER, D. MELAMED en H. PUTTFARCKEN, *Ber.* **55**, 3116 (1922).
155. R. PUMMERER, H. PUTTFARCKEN en P. SCHOPFLOCHER, *ib.* **58**, 1808 (1925).
156. R. PUMMERER en A. RIECHE, *ib.* **59**, 2161 (1926).
157. R. PUMMERER en F. LUTHER, *ib.* **61**, 1102 (1928).
158. R. PUMMERER, G. SCHMIDTUTZ en H. SEIFERT, *Chem. Ber.* **85**, 535 (1952).
159. R. PUMMERER en I. VEIT, *ib.* **86**, 412 (1953).
160. W. REINDERS en P. DINGEMANS, *Rec.* **53**, 209 (1934).
161. N. RIEHL en G. WIRTHS, *Z. physik. Chem.* **194**, 97 (1944).
162. R. A. ROBINSON en H. A. STOKES, *Electrolyte Solutions*, pag. 128 evgg., Butterworths Scientific Publications, London 1955.
163. E. ROUYER, *Ann. chim.* (10) **13**, 423 (1930).
164. A. J. RUTGERS, *Physische Scheikunde II*, pag. 435, P. Noordhoff N.V., 2e druk (1948).
165. H. SAITO, *J. Biochem. Japan* **35**, 243 (1942); *C.A.* **45**, 689 (1951).
166. M. SAMEC, *Kolloid-Z.* **51**, 96 (1930).
167. W. SCHEELE en L. STEINKE, *Kolloid-Z.* **77**, 312 (1936).
168. F. SCHEFFER en E. WELTE, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **48**, 250 (1950).
169. E. SCHMIDT, W. HAAG en L. SPERLING, *Ber.* **58**, 1400 (1925).
170. E. SCHMIDT en M. ATTERER, *ib.* **60**, 1671 (1927).
171. A. C. SCHUFFELEN en G. H. BOLT, *Landbouwk. Tijdschr.* **62**, 333 (1950).
172. A. C. SCHUFFELEN, *ib.* **66**, 274 (1954).
173. K. SIMON, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod. A* **18**, 323 (1930).
174. A. SKRABAL en E. GITSCHTHALER, *Z. physik. Chem.* **128**, 466 (1927).
175. F. J. SOWDEN en H. J. ATKINSON, *Soil Sci.* **68**, 433 (1948).
176. F. J. SOWDEN, H. J. ATKINSON en D. I. PARKER, *Sci. Agric.* **32**, 163 (1952).
177. H. STACH, *Brennstoff-Chem.* **22**, 170 (1942).
178. G. STADNIKOFF, S. SZYSKOW en A. USCHAKOWA, *Kolloid-Z.* **71**, 206 (1935).
179. H. N. STEIN en H. J. C. TENDELOO, *Rec.* **74**, 905 (1955); **75**, 1233, 1240 (1956).
180. H. J. C. TENDELOO en T. DE VRIES, *Rec.* **72**, 377 (1953).
181. H. THIELE en H. KETTNER, *Kolloid-Z.* **130**, 131 (1953).
182. R. TRECCANI-BENETTI en A. SCHIESSER, *Trans. 4th Intern. Congr. Soil Sci.* **1**, 188; **4**, 89 (1950).
183. K. B. VAISELBERG, *Khim. Tverdogo Topliva* **8**, 232 (1937).
184. A. K. VLCEK en E. SPALEK, *Tech. Hlídka Kozeluzska* **19**, 165 (1943) *C.A.* **42**, 7073 (1948).
185. A. K. VLCEK, E. SPALEK, L. KRATKY en E. HAVLICEK, *Chem. Obzor* **25**, 81 (1950); *C.A.* **44**, 11147 (1950).
186. T. DE VRIES, particuliere mededeling.
187. S. A. WAKSMAN en K. R. N. IYER, *Soil Sci.* **34**, 43 (1932).
188. S. A. WAKSMAN en H. W. SMITH, *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 1225 (1934).
189. S. A. WAKSMAN en I. J. HUTCHINGS, *Soil Sci.* **40**, 347 (1935).
190. S. A. WAKSMAN, *Humus*, Williams & Wilkins Co., Baltimore 1936.
191. H. WEIDEL en F. WENZEL, *Monatsh.* **19**, 236 (1898).
192. A. WEISSBERGER en J. E. LUVALLE, *J. Am. Chem. Soc.* **69**, 1576 (1947).
193. E. WELTE, *Z. Pflanzenern. Düng. Bod.* **56**, 105 (1952).
194. E. WELTE, *ib.* **57**, 142 (1952).
195. F. WESSELY, G. LAUTERBACH-KEIL en F. SINWEL, *Monatsh.* **81**, 811 (1950).
196. TH. WEYL en A. GOTH, *Ber.* **14**, 2673 (1881).
197. H. WIELAND en W. FRANKE, *Ann.* **457**, 1 (1927).
198. R. J. WILLIAMS, P. A. LASSELLE en H. A. REED, *Ind. Eng. Chem.* **17**, 852 (1925).
199. K. ZIEGLER, *Angew. Chem.* **61**, 168 (1949).