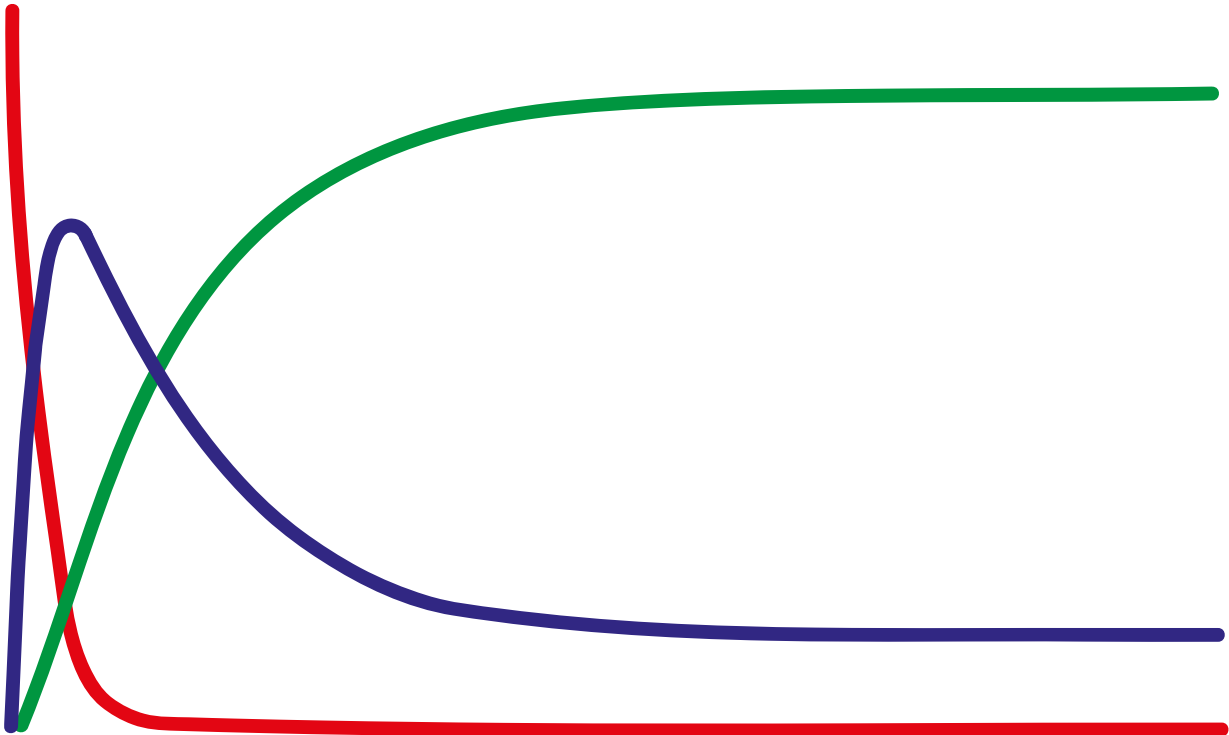


Gleichgewichts-Reaktionen zwischen Acetylsalicylsäure, Salicylsäure und Methylsalicylat

Maturaarbeit
Kantonsschule Zug



von

Melk Zimmermann

Betreut von

Dr. Urs Leisinger

Zug 2021/2022

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	3
Abstract	4
1 Einleitung	5
1.1 Dünnschichtchromatographie.....	5
1.2 High Pressure Liquid Chromatograph.....	6
1.3 Reaktionskinetische Grundlagen	6
1.4 Reaktionsmechanismus	7
1.4.1 Abspaltung der Acetyl-Gruppe	7
1.4.2 Veresterung.....	9
2 Material und Methoden	11
2.1 Chemikalien	11
2.2 Materialien.....	11
2.3 Versuchsaufbau.....	11
2.4 Methode.....	12
2.4.1 Synthese von Methylsalicylat	12
2.4.2 Untersuchung der Proben mittels Dünnschichtchromatographie.....	12
2.4.3 Herstellung und Anwendung des Kaliumpermanganat-Nachweis-Reagenz.....	12
2.4.4 Untersuchung der Aufnahmen der Dünnschichtchromatographien.....	13
2.4.5 Untersuchung der Proben mittels HPLC.....	15
3 Resultat und Diskussion	17
3.1 Resultate des Methylsalicylats im HPLC.....	17
3.2 Diskussion der Methylsalicylat Daten im HPLC.....	17
3.3 Resultate der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure im HPLC.....	18
3.4 Diskussion der HPLC-Daten.....	19
3.5 Resultate der Dünnschichtchromatographien	21
3.6 Diskussion der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure Daten mittels DC.....	22
3.7 Strichförmige Verunreinigung.....	23
3.8 Vergleich der Daten von Methylsalicylat aus der DC und dem HPLC.....	25
3.9 Modellierte Reaktionsgeschwindigkeiten und Reaktionskonstanten	26
3.10 Diskussion des Modells.....	28
3.10.1 Probleme mit der Konzentrationsbestimmung der Acetylsalicylsäure.....	28
3.10.2 Probleme mit dem Konzentrationsbestimmung des Methylsalicylats	29
3.10.3 Diskussion der Gleichgewichtskonstanten	29
4 Schlusswort und Dank	30

5	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	31
5.1	Abbildungsverzeichnis	31
5.2	Tabellenverzeichnis	31
6	Literaturverzeichnis.....	32
Anhang	32

Vorwort

Meine Begeisterung für die Naturwissenschaften wurde schon zu Beginn meiner Zeit an der Kantonsschule Zug von meinem Biologielehrer Pirmin Jans geweckt. Diese Faszination wurde im darauf folgenden Jahr von Johannes Strassmair mit seiner Einführung in die Naturwissenschaften fortgeführt. So fiel mir die Wahl des persönlichen Schwerpunkts sehr leicht. In meinem dritten Jahr wurde mit der Chemie bei Urs Leisinger ein Feuer in mir entfacht: Noch nie fand ich ein Fach so spannend. Auch in der Biologie bei Per Helge Antonsen konnte ich meinen Forscherdrang besonders mit dem Klassenprojekt «Science on the Move» nachgehen. Bis dahin hatte ich noch nie so lange Zeit im Team an einem Projekt gearbeitet. In meiner Rolle als Projektleiter konnte ich meine eigenen Ideen und auch die Ideen der Klassenkameraden sehr gut einbringen. Meiner Ansicht nach war unser Produkt genial, doch leider hat dies die Jury nicht gesehen.

Ich habe mich aktiv für eine Arbeit in der Chemie entschieden, da ich mit dem Erwerben, Üben und Vertiefen des Laborhandwerks eine optimale Grundlage für ein Chemieingenieurstudium an der ETH Zürich legen wollte. Dieses Vertiefen ist mir meiner Ansicht nach gut gelungen. Mit meiner Arbeit zu Gleichgewichtsreaktionen und deren Analyse kamen sehr verschiedene Bereiche der Chemie und generell der Naturwissenschaften zum Zug.

Ich scheue mich grundsätzlich nicht vor Herausforderungen, zwar habe ich sie bei meiner Arbeit nicht gesucht, aber sie haben mich voll erwischt. Der Lyriker Ernst Ferstl schrieb: «Jede neue Herausforderung ist ein Tor zu neuen Erfahrungen.» So habe ich es auch erlebt. Ich habe jeden Fehler, den man im Labor nur machen kann, mindestens einmal gemacht. Doch dies waren alles sehr lehrreiche Erfahrungen. Ich merkte, wie mir die Arbeit immer leichter fiel. Meine Begeisterung für die Chemie ist jedenfalls ungebrochen.

Abstract

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Fragestellung, wie gut sich die Gleichgewichtskonstanten K und kinetische Parameter aus den Zeitverläufen der Umwandlungsreaktionen zwischen Aspirin, Salicylsäure und Methylsalicylat abschätzen lassen.

In Reaktionsansätzen wurden die Konzentrationen der verschiedenen Reaktanden im Verlauf der Zeit mittels Dünnschichtchromatographie (DC) und mit dem High Pressure Liquid Chromatograph (HPLC) bestimmt. Der zur Verfügung stehende HPLC eignete sich nur zur Quantifikation des Methylsalicylates, während sich die Konzentrationen der anderen Komponenten präziser mittels DC ermitteln liessen.

Die Konzentration des Eduktes, Aspirin, nahm in allen Ansätzen sehr schnell ab und sank unter die Detektionsgrenze. Für den ersten Reaktionsschritt liess sich also weder eine Rückreaktion noch ein Reaktionsgleichgewicht nachweisen, in guter Übereinstimmung mit den Literaturwerten. Das Zwischenprodukt, Salicylsäure, zeigte einen interessanten Verlauf, mit einer schnellen Zunahme am Anfang und einer langsamen Abnahme danach. Die Salicylsäure verschwand nie ganz aus dem Reaktionsansatz, sondern ihre Konzentration pegelte sich auf einem niedrigen Wert ein. Dies wurde als Hinweis gewertet, dass sich beim zweiten Reaktionsschritt ein Gleichgewicht einstellte. Die Konzentration des Endprodukts, Methylsalicylat, blieb in allen Reaktionsansätzen tiefer als erwartet.

Im letzten Teil dieser Arbeit wurden die gemessenen Konzentrationsverläufe in einem Modell simuliert. Für die Konzentrationsänderungen der drei Komponenten wurden Differentialgleichungen aufgestellt und die Geschwindigkeitskonstanten dieser Gleichungen variiert, bis das Modell möglichst gut auf die Messdaten passte. So gelang es, die Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten der Teilreaktionen abzuschätzen. Die gefundene Gleichgewichtskonstante der zweiten Teilreaktion zeigte eine gute Übereinstimmung mit Literaturwerten.

1 Einleitung

Im Folgenden Abschnitt werden die grundlegenden Theorien der Messmethoden, grundlegende Reaktionskinetischen Begrifflichkeiten und der Reaktionsmechanismus dieser Arbeit kurz erklärt.

1.1 Dünnschichtchromatographie

Mit einer Dünnschichtchromatographie (DC) ist es möglich, ein Stoffgemisch in seine Komponenten aufzutrennen. Man trägt mit einer Mikropipette (Kapillare) bis zu $10 \mu\text{g}$ ¹ gelöste Stoffe auf eine DC-Platte auf, die in diesem Fall mit Kieselgel überzogen wurde. Damit die Bande nicht zu breit wird, muss die Probe in kleinen Portionen aufgetragen werden. Zusätzlich wird mit einem Heissluftföhn geheizt, damit das Lösemittel schneller verflüchtigt. Danach wird die DC-Platte senkrecht in eine Kammer gestellt, die geschüttelt wurde, so dass kein Laufmittel von der Platte in die gesättigte Kammer verdampfen kann. Das Laufmittel fließt nun aufgrund von Kapillarkräften nach oben. Die einzelnen Stoffproben werden auseinander gezogen, da jeder Stoff in einem unterschiedlichen Gleichgewicht zwischen der mobilen (Laufmittel) und stationären (Kieselgelschicht) Phase steht.² Die Kieselgelschicht, bestehend aus SiO_2 , ist relativ polar und kann gute zwischenmolekulare Wechselwirkungen eingehen. Für eine gute Auftrennung benötigt es ein genau passend polares Laufmittel. Wäre das Laufmittel zu polar, würden beispielsweise polare Proben zu weit mit dem Laufmittel ziehen, wäre das Laufmittel ungenügend polar, blieben diese Proben in der stationären Phase gebunden.³

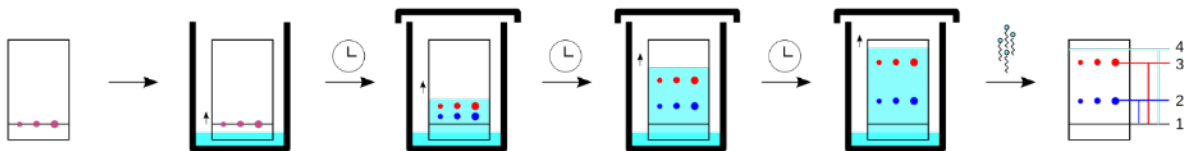


Abbildung 1 Darstellung einer Dünnschichtchromatographie⁴

In Abbildung 1 sieht man eine schematische Darstellung einer Dünnschichtchromatographie⁴. Zuerst werden die Proben aufgetragen, hier drei Mal die gleichen in unterschiedlichen Mengen, und in einem zweiten Schritt senkrecht in die Kammer mit Laufmittel gestellt. In den darauffolgenden drei Schritten sieht man, wie sich die Proben im Verlauf der Zeit, zu unterschiedlichen Banden, auftrennen. Die rote Bande wird eher von der mobilen Phase mitgezogen, während die blaue Bande in der stationären Phase hängen bleibt. Zum Schluss lässt man noch die mobile Phase verdampfen, um sich ein schöneres Bild vom fertigen DC machen zu können.

1.2 High Pressure Liquid Chromatograph

Im Prinzip funktioniert ein High Pressure Liquid Chromatograph (HPLC) wie eine DC. Ein Stoffgemisch wird aufgetrennt mittels einer mobilen und einer stationären Phase. Die stationäre Phase im HPLC hingegen ist völlig unpolar und das Laufmittel ist eine Lösung aus Wasser und Acetonitril. Dabei trennen sich die unterschiedlichen Stoffproben aufgrund der gleichen Wechselwirkungen wie bei der DC auf. Ein unpolarer Stoff geht mit hoher Wahrscheinlichkeit vermehrt Wechselwirkungen mit der unpolaren stationären Phase ein, während ein stärker polarer Stoff eher vermehrt Wechselwirkungen mit der mobilen Phase eingeht.

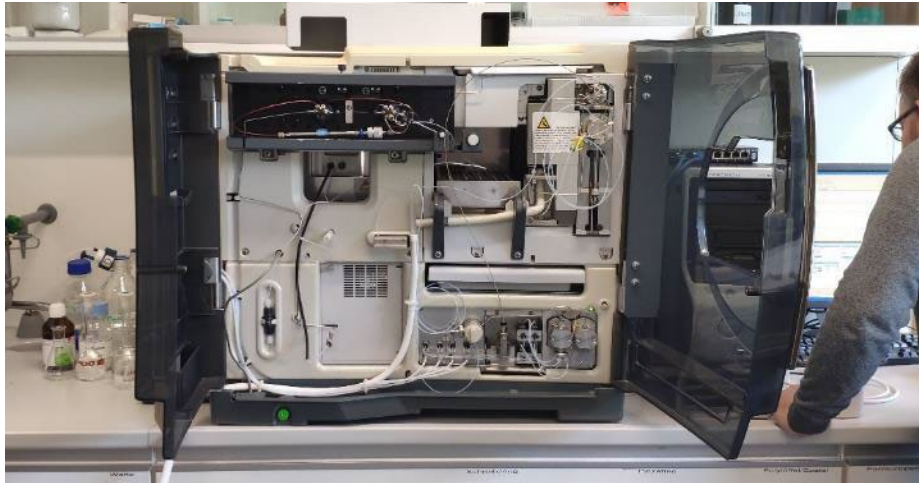


Abbildung 2 Varian 920-LC Flüssig-Chromatograph an der KSZ

Beim HPLC werden die Proben mit einer konstanten Flussrate durch eine 100 mm lange Säule gepumpt. Nach diesen 100 mm haben sich die Stoffe aufgetrennt und fließen nacheinander in einen UV-Detektor. Der schematische Aufbau eines UV-Detektors ist in Abbildung 3 zu sehen⁵. Die Probezelle wird von einer UV-Lampe mit variabler Wellenlänge durchleuchtet und ein Sensor detektiert diese konstante Menge an Licht. Durchfließt nun eine Probe die Probezelle, reduziert sich die Menge an Licht, die den Sensor noch erreicht. Das daraus resultierende Signal nimmt proportional zur Stoffkonzentration zu und wird in milli-Absorbance-Units ([mAU]) angegeben⁵.

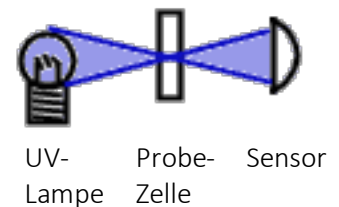


Abbildung 3 schematisches Diagramm eines UV-Detektors⁵

1.3 Reaktionskinetische Grundlagen

Eine Reaktion von Stoff A nach Stoff B liegt produktseitig, wenn der Wert der Gleichgewichtskonstante K gross ist und eduktseitig wenn der K -Wert klein ist. Diese Konstante K bezeichnet das Verhältnis der Geschwindigkeit der Hinreaktion zur Geschwindigkeit der Rückreaktion. Läuft die Hinreaktion 10-mal so schnell wie die Rückreaktion ab, so wird der K -Wert bei 10 liegen. Mit einer Reaktionsgeschwindigkeit bezeichnet man das Produkt aus der Geschwindigkeitskonstante (k) und der Konzentration, mit welcher ein Stoff vorliegt.

1.4 Reaktionsmechanismus

Das Methylsalicylat lässt sich in zwei Schritten aus kommerziell erwerblichem Aspirin (Acetylsalicylsäure, ASA) synthetisieren. In einem ersten Schritt muss die in Abbildung 4 blau markierte Estergruppe eliminiert und durch ein Proton ersetzt werden (Addition). Dies wird erreicht, indem der Essigsäurerest in einer Umesterung auf ein Methanol-Molekül übertragen wird. In einem zweiten Schritt muss aus der orangen markierten Karbonsäure eine Estergruppe gebildet werden (Veresterung). Dafür wird zusätzlich noch ausreichend Methanol benötigt.

1.4.1 Abspaltung der Acetyl-Gruppe

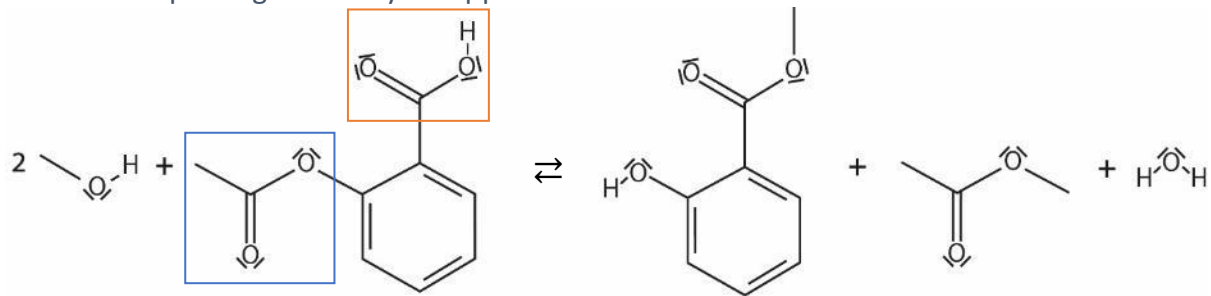


Abbildung 4 Überblick vom Reaktionsmechanismus

In diesem ersten Schritt wird die Estergruppe der Acetylsalicylsäure durch eine Umesterung in einen Alkohol umgewandelt, während die Acetylgruppe zu einem Methylester wird. Diese Teilreaktion verläuft nach einem Additions/Eliminations-Reaktionsmechanismus. Das partiell-negativ geladene Sauerstoffatom des Nucleophils (Methanol), greift das partiell-positiv geladene Kohlenstoffatom in der Estergruppe an. Dieser Reaktionsschritt wird nukleophiler Angriff genannt und ist in Abbildung 5 ersichtlich. Durch diese Addition des Nucleophils entsteht ein instabiles tetraedrisches Zwischenprodukt.

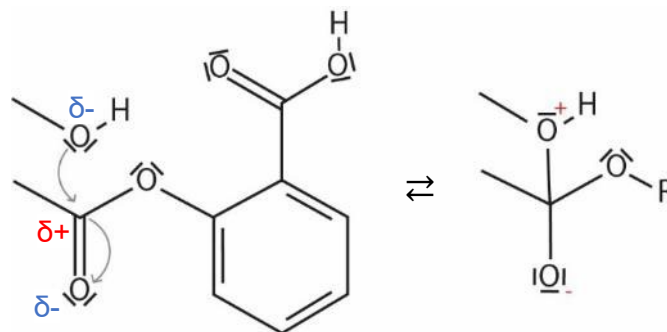


Abbildung 5 Nucleophiler Angriff von Methanol auf Acetylsalicylsäure (R entspricht einem Benzol mit einer Karbonsäuregruppe)

Ein nichtbindendes Elektronenpaar des Methanols bindet an das partiell positive Kohlenstoffatom der Estergruppe und die Doppelbindung der Estergruppe wird zum Sauerstoffatom verschoben. Das Sauerstoffatom, das ursprünglich aus dem Methanol stammte, trägt nun eine positive Formalladung und das untere Sauerstoffatom eine negative. Doppelbindungen bestehen aus einer stabilen σ -Bindung und einer schwächeren π -Bindung, die sich leichter auf das Sauerstoffatom verschieben lässt.

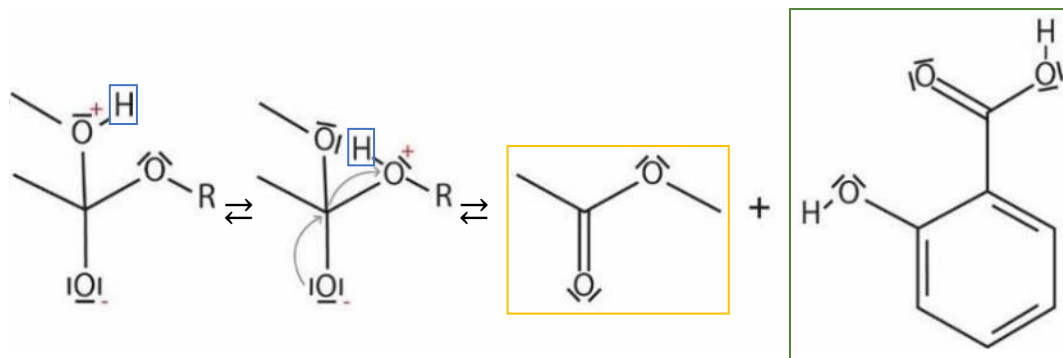


Abbildung 6 Umprotonierung (R entspricht einem Benzol mit einer Karbonsäuregruppe)

Daraufhin ist es möglich, dass der Wasserstoffkern (blau umrahmt in Abbildung 6), der ursprünglich noch auf dem Methanol lag, auf das nahegelegene Sauerstoffatom der ursprünglichen Estergruppe wechselt. Diesen Vorgang nennt man Umprotonierung und ist in der Abbildung 6 dargestellt. Dass solche Umprotonierungen in beide Richtungen ablaufen ist wahrscheinlich, da in beiden Fällen ein ähnlich (in)stabiler Zustand beschrieben wird und die Aktivierungsenergie solcher intramolekularen Säure/Base-Reaktionen klein ist.

Ist aber nun diese Umprotonierung erfolgt, kann das neu formal-positiv geladene Sauerstoffatom das bindende Elektron zu sich ziehen und das Elektron aus der ursprünglichen π -Bindung vom formal-negativ geladenen Sauerstoffatom geht wieder eine Doppelbindung ein. Dabei entsteht der Essigsäuremethylester (gelb umrahmt in Abbildung 6) und Salicylsäure (SA, grün umrahmt in Abbildung 6). Somit wurde unter Elimination eines Essigsäuremethylesters ein stabiler Zustand erreicht. Bei all diesen Produkten ist auch immer mit einer Rückreaktion zu rechnen.

Methanol ist allerdings kein sehr reaktives Nukleophil und die Acetylsalicylsäure kein sehr reaktives Elektrophil. Die Reaktion verläuft also nach dem oben beschriebenen Mechanismus nur langsam. Der nukleophile Angriff vom Methanol ist noch viel effektiver mit einem protoniertem Sauerstoffatom in der Estergruppe. Somit ist das formal-positiv geladene Sauerstoffatom noch elektrophiler und es vereinfacht dem partiell negativ geladenem Sauerstoffatom den Angriff. Die Abbildung 7 zeigt diesen Vorgang. Das H^+ stammt dabei aus zugesetzter konzentrierter Schwefelsäure.

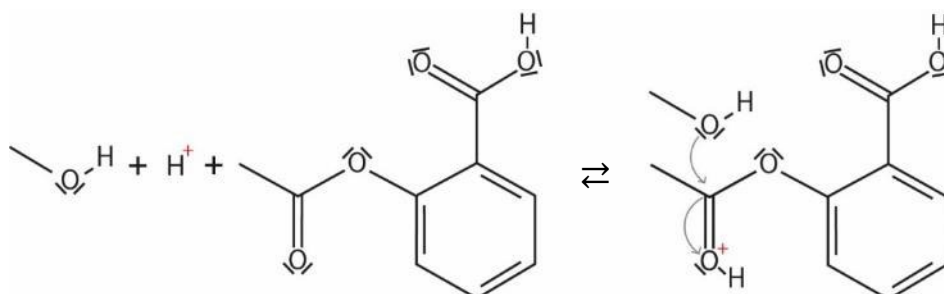


Abbildung 7 Nukleophiler Angriff auf protonierte Acetylsalicylsäure

Die folgenden Reaktionsschritte sind sehr ähnlich wie bei der unprotonierten Acetylsalicylsäure in Abbildung 5, jedoch ist der nukleophile Angriff in einer Umgebung

mit einem Überschuss an Wasserstoffkernen (in saurer Umgebung) wahrscheinlicher, die Reaktion verläuft also schneller.

Die darauffolgende Umprotonierung (siehe Abbildung 8) verläuft identisch wie in Abbildung 6 mit dem Unterschied, dass darauffolgend der Wasserstoffkern das Molekül, gebunden an eine Base (mit B bezeichnet in Abbildung 8) verlässt. Gleich bleibt, dass das frei werdende Elektron wieder eine Doppelbindung bildet. Währenddessen verlagert sich das bindende Elektronenpaar ganz auf das formal-positive Sauerstoffatom, so dass sich eine Hydroxygruppe abspaltet.

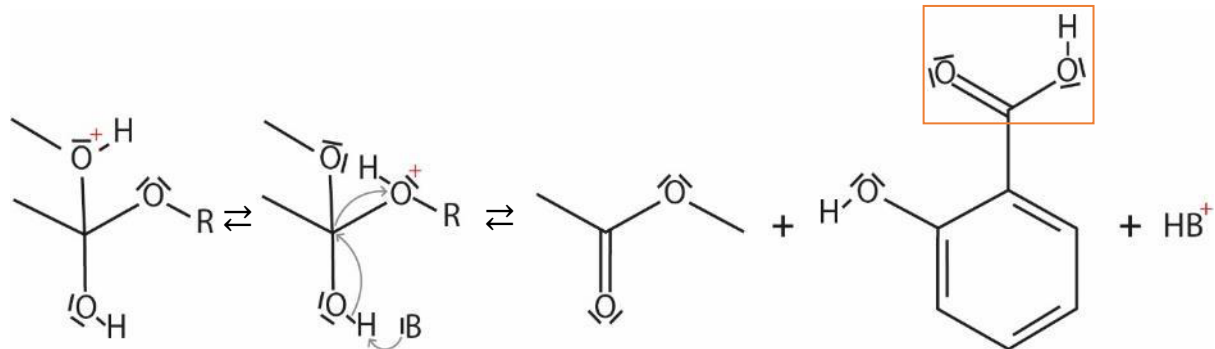


Abbildung 8 Umprotonierung mit protonisierter Estergruppe (R entspricht einem Benzolring mit einer Karbonsäuregruppe)

1.4.2 Veresterung

Im zweiten Schritt wird die verbleibende Karbonsäuregruppe (orange umrahmt in Abbildung 4 und Abbildung 8) in eine Estergruppe umgewandelt, während sich aus dem Methanol H_2O bildet. Dieser Reaktionsschritt wird «Veresterung» genannt und verläuft ebenfalls nach einem Addition/Eliminations-Mechanismus. Das partiell-negativ geladene Sauerstoffatom im Methanol greift das partiell-positiv geladene Kohlenstoffatom in der Karbonsäuregruppe an. Bei diesem Reaktionsschritt handelt es sich wiederum um einen nukleophilen Angriff bzw. eine nukleophile Addition. Dieser ist in Abbildung 9 ersichtlich. Durch diese Addition des Nukleophils entsteht wie in Abbildung 5 ein instabiles Zwischenprodukt.

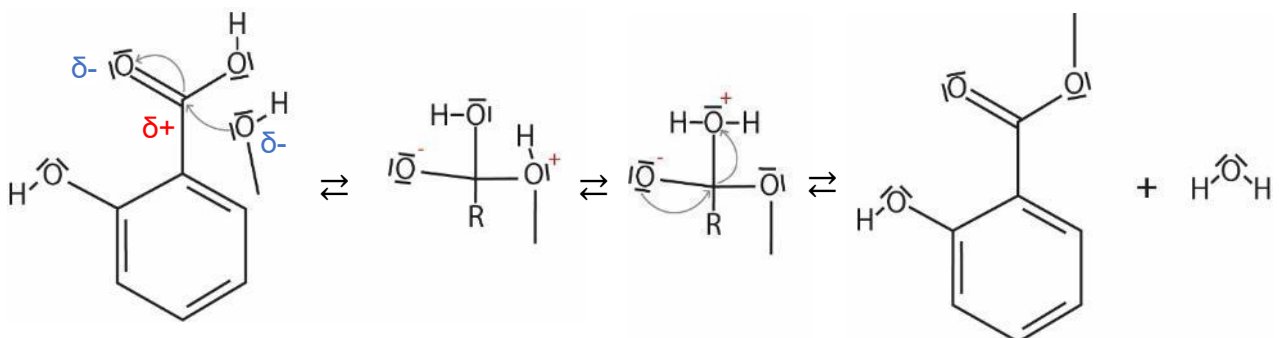


Abbildung 9 Nukleophiler Angriff von Methanol auf Salicylsäure inklusive Umprotonierung (R entspricht einem Phenol)

Die darauffolgende Umprotonierung aus der Abbildung 9 verläuft im Prinzip wie in Abbildung 6 und Abbildung 8. Der Wasserstoffkern kann sich an das nichtbindende Elektronenpaar des oberen Sauerstoffatoms hängen. Dieses wird dadurch formal-positiv geladen und zieht noch viel stärker an dem bindenden Elektron. So ist es möglich, dass sich ein Elektron vom formal-negativ geladenen Sauerstoffatom zurückklappt, somit

wieder eine Doppelbindung eingeht und das formal-positiv geladene Sauerstoffatom kann mit einem zusätzlichen Elektron als H_2O den instabilen Zustand verlassen.

Auch der in Abbildung 9 dargestellte nukleophile Angriff ist viel wahrscheinlicher, wenn das doppelt gebundene Sauerstoffatom der Karbonsäuregruppe bereits protoniert wurde, das heisst einen Wasserstoffkern gebunden hat. Das formal-positiv geladene Sauerstoffatom aus der Abbildung 10 zieht dem bereits partial-positiv geladenem Kohlenstoffatom noch viel stärker an seinen Elektronen. Damit kann das Nukleophil (Methanol) einfacher an das Kohlenstoffatom binden.

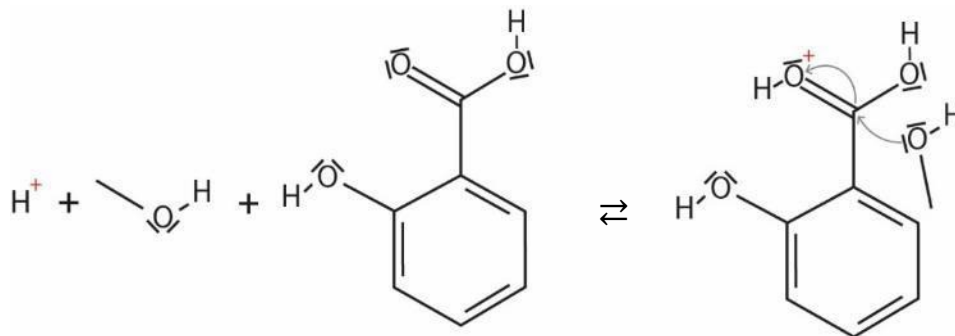


Abbildung 10 Nukleophiler Angriff auf protonierte Salicylsäure

Auch die in Abbildung 11 dargestellte Umprotonierung verläuft sehr ähnlich zu diesen aus Abbildung 6, Abbildung 8 und Abbildung 9. Mit dem Unterschied, dass der Wasserstoffkern das Molekül, gebunden an eine Base (mit B bezeichnet in Abbildung 11) verlässt. Das dadurch freiwerdende Elektron bildet eine Doppelbindung und das neu formal positiv geladene Sauerstoffatom, aufgrund der Umprotonierung vom Wasserstoffkern, kann sich das bindende Elektron hochklappen und als Teil vom entstehenden Wasser abspalten.

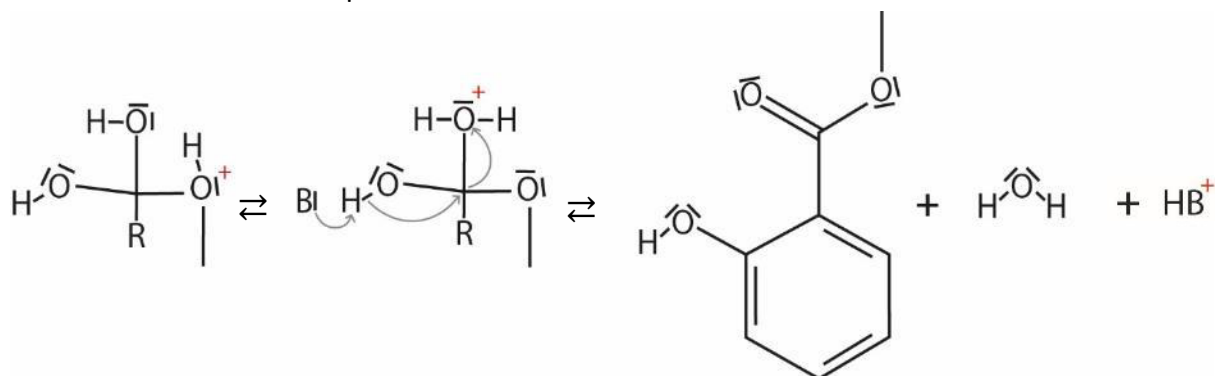


Abbildung 11 Umprotonierung bei bereits protonierter Karbonsäuregruppe (R entspricht einem Phenol)

Die Vermutung liegt nahe, dass all diese beschriebenen Reaktionen in einem gekoppelten Gleichgewichtssystem liegen, da keine massiv energetisch günstigere Zustände erreicht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Chemikalien

Tabelle 1 Chemikalien

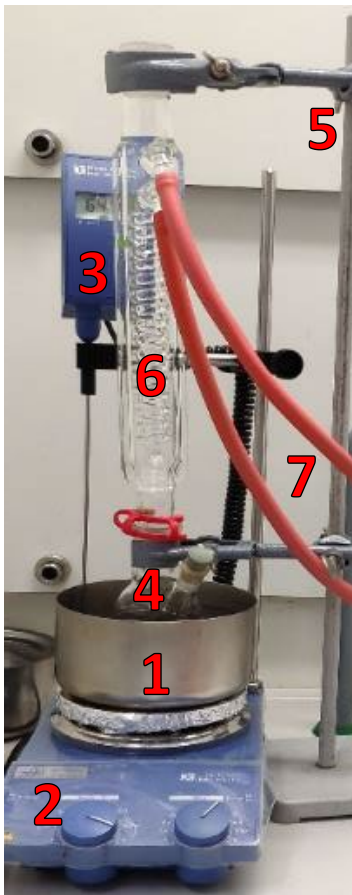
- | | |
|----------------------|--------------------------------|
| - Acetylsalicylsäure | - Ethanol |
| - Salicylsäure | - Methanol |
| - Methylsalicylat | - Schwefelsäure (18.663 mol/L) |
| - Essigsäure | - Natriumhydrogencarbonat |
| - Diethylether | - Kaliumpermanganat |
| - Toluol | |

2.2 Materialien

Tabelle 2 Materialien

- | | | |
|---------------------------------------|----------------------|------------------------|
| - Varian 920-LC Flüssig-Chromatograph | - Heissluftföhn | - Stativ |
| - Präzisionswaage | - Mikropipetten | - Stativklemme |
| - Bechergläser | - Messkolben | - Socorex Pipetten |
| - Zweihalsrundkolben 100 mL | - Rückflusskühler | - Gummi Stopfen |
| - Heizplatte | - Schläuche | - Klemme |
| - Thermostat | - Messzylinder 5 mL | - Reagenzgläser |
| - Ölbad | - Messzylinder 10 mL | - Reagenzgläserständer |
| - DC-Kammer | - Rührmagnet | - DC-Platte |
| | - UV-Lampe | - Nikon D7000 |

2.3 Versuchsaufbau



- 1) Ölbad mit Rührmagnet
- 2) Heizplatte mit Magnetrührer
- 3) Thermostat
- 4) Zweihalsrundkolben mit Reaktionsansatz und Rührfisch
- 5) Stativ mit Stativklemme
- 6) Rückflusskühler
- 7) Schläuche für den Wasseranschluss

Abbildung 12 Versuchsaufbau

2.4 Methode

2.4.1 Synthese von Methylsalicylat

Für die Entwicklung der Synthese von Methylsalicylat aus Acetylsalicylsäure und Methanol dienten die Methoden von Hartel und Hanna⁶ und die von Olechno⁷ als Vorlage. Die verwendeten Chemikalien und die benötigten Materialien sind in der Tabelle 1 und Tabelle 2 zu finden, der Versuchsaufbau ist in Abbildung 12 dargestellt.

In einen Zweihalsrundkolben mit 100 mL Volumen wurden 6.5 g (36.1 mmol) Acetylsalicylsäure eingewogen, mit 30 mL Methanol aufgefüllt und einen passender Rührmagnet zugesetzt. Der Rundkolben wurde mit einer Stativklemme in einem Ölbad fixiert, ein Rückflusskühler aufgesetzt, an den Wasserhahn angeschlossen und die Verbindung zwischen Kolben und Rückflusskühler mit einer Schliffklemme gesichert. Der noch offene Hals des Rundkolbens wurde mit einem Stopfen verschlossen (siehe Abbildung 12). Das Ölbad wurde auf 60 °C erwärmt und gewartet, bis die Acetylsalicylsäure gelöst war. Nun wurde eine erste Probe von 0.2 mL entnommen. Dann wurden 2 mL konzentrierte Schwefelsäure zugegeben und in geeigneten Abständen laufend 0.2 mL-Aliquote entnommen. Alle Zeitpunkte der Probeentnahme sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tabelle 3 Zeitpunkt der Probeentnahme nach Zugabe des Säurekatalysators

Probe	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Zeitpunkt nach Säure Zugabe	0min 0s	0min 10s	0min 40s	1min 0s	2min 0s	2min 30s	3min 20s	6min 40s	13min 20s	20min 0s	26min 40s	55min 20s	90min 0s

Diese 0.2 mL Proben wurden jeweils aus der laufenden Reaktion pipettiert und in 1.0 mL 5 % Natriumhydrogencarbonat gegeben, um den Säurekatalysator zu eliminieren. Dazu mussten die 1.2 mL Lösung schnell durchmischt werden, indem sie mit der Pipette zügig aufgezogen und wieder ausgestossen wurde. Dabei musste man aufpassen, dass die Lösung nicht überschäumte.

2.4.2 Untersuchung der Proben mittels Dünnschichtchromatographie

Von diesen 1.2 mL Lösung wurden 0.03 mL in ein Reagenzglas pipettiert, das bereits 0.97 mL Ethanol enthielt. Die resultierende Lösung enthielt nun maximal 10 µg Acetylsalicylsäurederivat pro 10 µL. Solche 10 µL -Aliquote wurden jeweils mittels DC aufgetrennt. Die Proben wurden auf einer mit Kieselgel beschichtete Platte aufgetragen und mit einem Laufmittel aus Methanol, Eisessig, Diethylether und Toluol (1+18+60+20) aufgetrennt¹. Die DC-Proben wurden unter UV ($\lambda = 254 \text{ nm}$) analysiert und mit einem Kaliumpermanganat-Reagenz entwickelt¹.

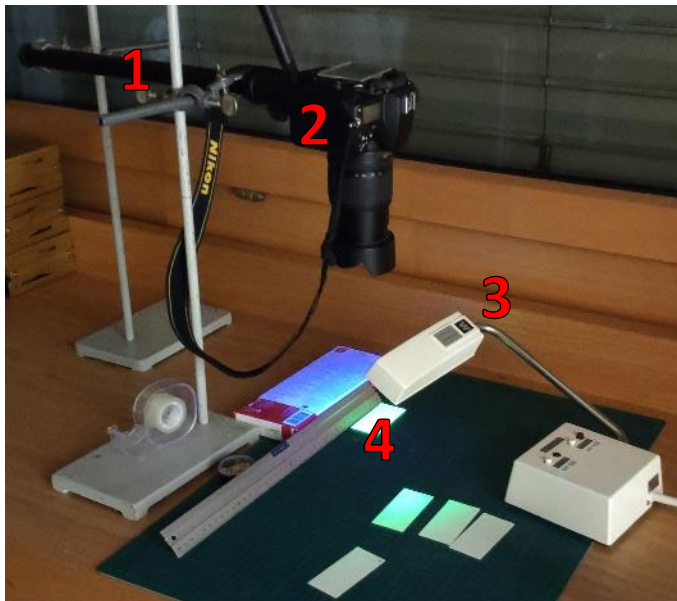
2.4.3 Herstellung und Anwendung des Kaliumpermanganat-Nachweis-Reagenz

Eine 0.05%-Lösung von Kaliumpermanganat wurde hergestellt, indem 0.25 g Kaliumpermanganat mit deionisiertem Wasser auf 0.5 mL aufgefüllt wurden. Von dieser Lösung wurden 0.01 mL in 9.99 mL deionisiertes Wasser gegeben.

Zum Entwickeln wurden ungefähr 5 mL dieser Entwicklerlösung auf eine Glasplatte vorgelegt, das DC-Plättchen mit der stationären Phase nach unten auf diesen Tropfen gelegt und sogleich aufgehoben, abgestreift und während einiger Minuten getrocknet.

Das Plättchen färbt sich beim Entwickeln pink, während Reduktionsmittel als bleiche oder braune Flecken sichtbar werden.

2.4.4 Untersuchung der Aufnahmen der Dünnschichtchromatographien



- 1) Stativaufbau
- 2) Nikon D7000 mit AF-S VR DX 18-105mm Objektiv
- 3) UV-Lampe mit $\lambda = 254 \text{ nm}$
- 4) Dünnschichtchromatogramm

Abbildung 13 Kamera-Einrichtung

Um die Proben auf den DC-Platten zu untersuchen, wurden diese fotografiert (siehe Abbildung 13). Da die Platten nur innerhalb einer Aufnahme auf einen Stoff untersucht wurden, waren die Auflösung, ISO-Werte und Blende ohnehin konstant. Mit der Stativkonstellation war es möglich, die Kamera stets senkrecht zu halten und genau im selben Abstand zu positionieren, so dass die Bildverzerrung und -skalierung keinen signifikanten Einfluss auf die Pixelverteilung nahm. Gewisse Unterschiede der Intensität ergaben sich dennoch durch die nicht homogene Ausleuchtung und dadurch, dass auf den Platten teilweise noch kleine UV-absorbierende Rückstände von Toluol aus dem Laufmittel vorhanden waren.

Die Acetylsalicylsäure und die Salicylsäure wurden unter UV ($\lambda = 254$) und nur im invertierten Grünkanal quantitativ ausgewertet. Auf der Abbildung 14 sieht man von links nach rechts die Proben von 1, 5 und 10 μg Acetylsalicylsäure. Diese Mengen für die Eichlösungen wurden aufgrund der von Stahl publizierten Nachweisgrenzen gewählt¹. Das Methylsalicylat wurde nach dem Entwickeln mit Kaliumpermanganat im invertierten Graukanal ausgewertet.

Kurzgesagt wurden die Intensitäten der Banden von Eichlösungen in Dünnschichtchromatogrammen gemessen und deren Werte mit den Werten der Intensitäten der Stoffproben verglichen.

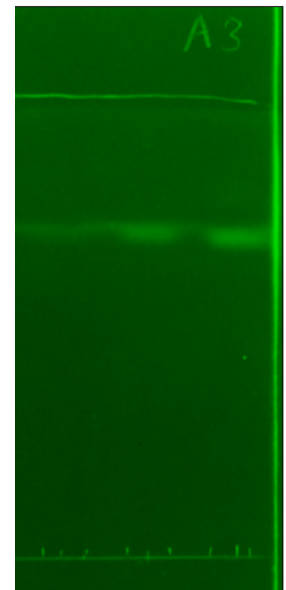


Abbildung 14 Eichlösungen der Acetylsalicylsäure (v.l.n.r. 1.0, 5.0 & 10.0 μg)

Die Bandenintensität wurde mit einem in Python programmierten «Pixel-Integrator» quantifiziert⁸. Zunächst wurden alle Pixel in einem markierten Bereich nach ihrer Helligkeitsstufe sortiert und wie in Abbildung 15 dargestellt. Das Bild wurde dafür in ein Graustufenbild umgewandelt und der Pixelwert eines beliebigen Kanals als Helligkeitswert verwendet. Unter der Frequenz in der Abbildung 15 versteht man die Anzahl der Pixel mit der entsprechenden Helligkeitsstufe. Diese Frequenz darf nicht mit dem physikalischen Begriff der Frequenz verwechselt werden⁹.

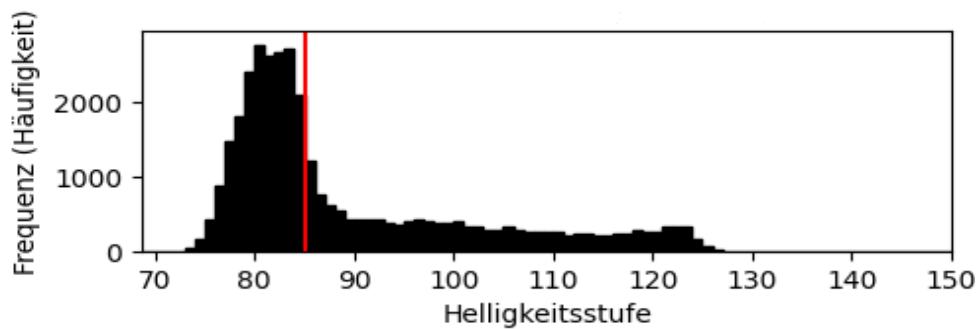


Abbildung 15 Frequenz der Pixel sortiert nach ihrer Helligkeitsstufe bei der Eichlösung von 5 μg Acetylsalicylsäure

Der Peak mit Helligkeitsstufen unter 85 in Abbildung 15 stammt von den Hintergrund-Pixeln ausserhalb der eigentlichen Banden. Der langgezogene Bereich mit Helligkeitsstufen von 85 bis etwa 125 stammen von Pixeln innerhalb der Banden.

Die rote Markierung in Abbildung 15 steht zwischen den Helligkeitsstufenwerten des Hintergrundes und der Banden. Die Markierung entspricht im Idealfall der maximalen Helligkeitsstufe, die im Hintergrund auftritt. Diese maximale Hintergrund-Helligkeitsstufe musste bei jeder untersuchten Bande aufgrund der variierenden Lichtverhältnisse neu aufgenommen werden.

Alle Helligkeitsstufen grösser als die maximale Hintergrund-Helligkeitsstufe (rechts von der roten Markierung in Abbildung 15) wurden mit ihrer jeweiligen Frequenz multipliziert und aufsummiert. Diese Summe wurde als Mass für die Intensität der Bande verwendet. Allerdings hängt die so bestimmte Intensität von der Ausleuchtung der Probe, dem Streulicht beim Erstellen der Fotografie und anderen Parametern ab. Je stärker eine Probe mit UV bestrahlt wird, desto heller wird der Hintergrund und desto grösser wird aber auch die gemessene Bandenintensität. Um solche Schwankungen herauszurechnen, wurde die gemessene Intensität daher durch die maximale Hintergrund-Helligkeitsstufe dividiert. Dieser Wert wurde «Normierte Intensität» benannt und in Abbildung 16 im Verhältnis zur Acetylsalicylsäuremenge dargestellt.

Die Daten der Eichlösungen wurden in ein Excel exportiert und in einem Punktediagramm dargestellt wie in Abbildung 16. Mittels linearer Regression generierte Excel die Geradengleichung der am besten auf die Punkte passende Geraden. Dabei wurde nicht erzwungen, dass die Gerade durch den Ursprung ging. Zusätzlich wurde noch der Determinationskoeffizient R^2 angezeigt, um die Aussagekraft dieser Trendlinie abzuschätzen. In die erhaltene Geradengleichung wurden die gemessenen Intensitäten der Probenbanden eingesetzt, um eine ungefähre Aussage über die Menge des vorliegenden Stoffes zu machen.

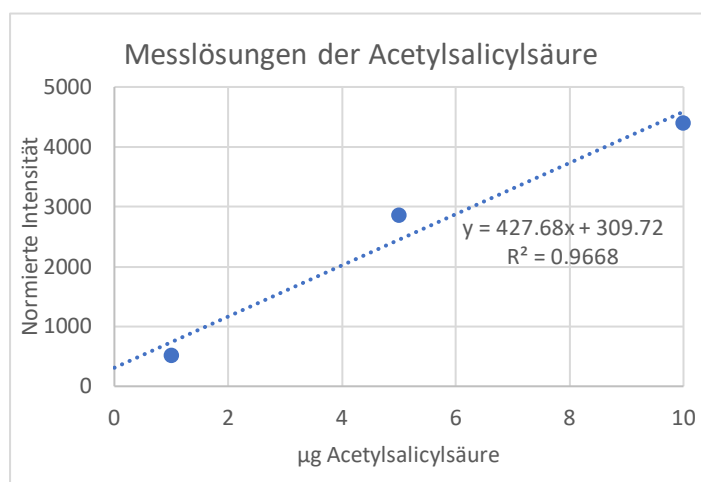


Abbildung 16 DC-Eichlösungen der Acetylsalicylsäure

2.4.5 Untersuchung der Proben mittels HPLC

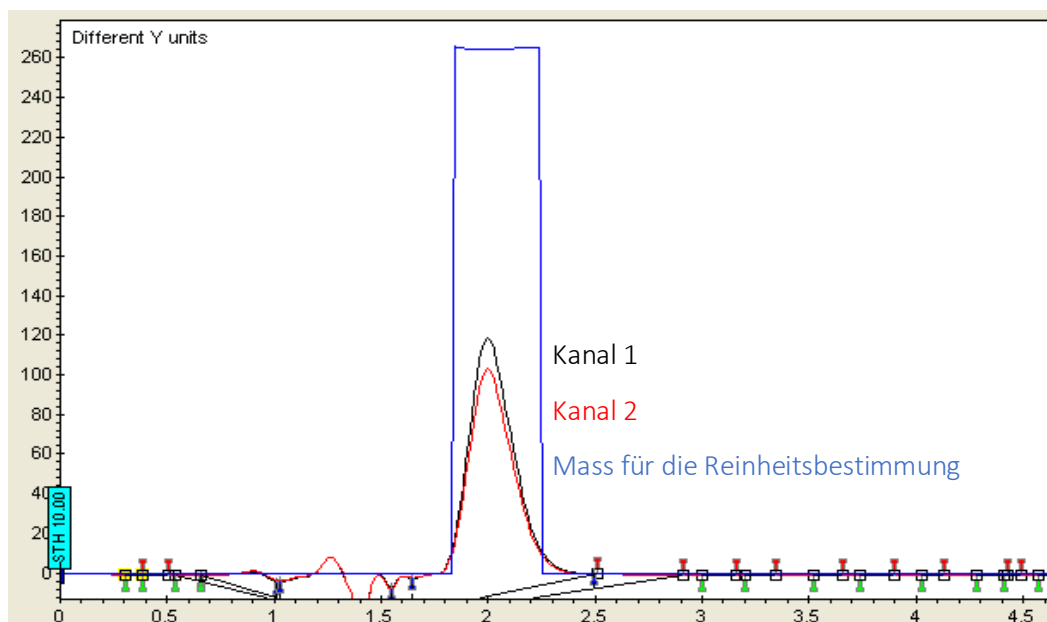


Abbildung 17 Diagramm der HPLC Analyse von Ethanol

Von der Lösung mit $10 \mu\text{g}$ Acetylsalicylsäurederivat pro $10 \mu\text{L}$, die für die Analyse mit der Dünnschichtchromatographie verwendet wurden, wurden 0.3 mL in 0.7 mL Ethanol gelöst. Dieser Milliliter mit maximal 0.3 mg Acetylsalicylsäurederivat wurde im HPLC analysiert.

Dieser floss durch eine 100 mm lange Inert Sustain C18 (5020-07424)Säule mit einem inneren Durchmesser von 3.0 mm, mit einem durch Phosphorsäure korrigiertem pH-Wert von 2.5 und einer Fließgeschwindigkeit von 2 mL/min¹⁰. Ein HPLC-Diagramm, wie in Abbildung 17 Diagramm der HPLC Analyse von Ethanol, liest sich folgendermassen: Die x-Achse bezeichnet die Retentionszeit (t_R) in Minuten (in folgenden Tabellen und Abbildungen wird sie nur noch als Zeit [min] angegeben) und die y-Achse gibt einen Wert in mili-Absorbance-Units (mAU)⁵ an. Je grösser dieser Wert ist, desto mehr Stoff hat zu diesem Zeitpunkt die Säule verlassen und wurde vom UV-Detektor gemessen. Der UV-Detektor untersucht die Absorption einer Probe von zwei unterschiedlichen UV-Wellenlängen gleichzeitig. Wellenlänge 1 wurde dabei als schwarze Kurve abgebildet und mit Kanal 1 bezeichnet, während Wellenlänge 2 als rote Kurve dargestellt und Kanal 2 genannt wird.

Dazu ist in Abbildung 17 in blau noch eine «Kurve» für die Reinheit einer Probe angegeben. Diese wird aus dem Verhältnis der Absorptionen aus Kanal 1 und Kanal 2 berechnet. Da sich dieser Reinheitskanal aber nie gross bewährt hat, wurde diesen Angaben keine Beachtung geschenkt¹¹.

Daraufhin war das Vorgehen dasselbe wie bei der Dünnschichtchromatographie. Eine Lösung mit bekannter Konzentration wurde vom HPLC analysiert und deren Integral (Fläche unter der Kurve, [mAU.min]) wurde mit anderen Integralen desselben Stoffes aus anderen Proben verglichen.

Zusätzlich war die Ethanolkonzentration unterschiedlich hoch in verschiedenen Proben. Aus diesem Grund wurden alle Integrale beliebiger Stoffe, durch das Integral vom Ethanol ihrer Probe geteilt, bevor die Stoffkonzentrationen mit anderen verglichen wurden. Somit wurden die Messwerte auf ein konstantes Ethanolvolumen normiert, um vergleichbare Messgrößen zu erhalten.

3 Resultat und Diskussion

3.1 Resultate des Methylsalicylats im HPLC

In Abbildung 18 sieht man das Diagramm des HPLCs von der 0.3 mg/mL Methylsalicylatlösung. In Tabelle 4 findet man deren numerische Werte. In Tabelle 5 erkennt man die Messergebnisse des Methylsalicylats aus dem HPLC, sie wurden nur im Kanal 2 analysiert.

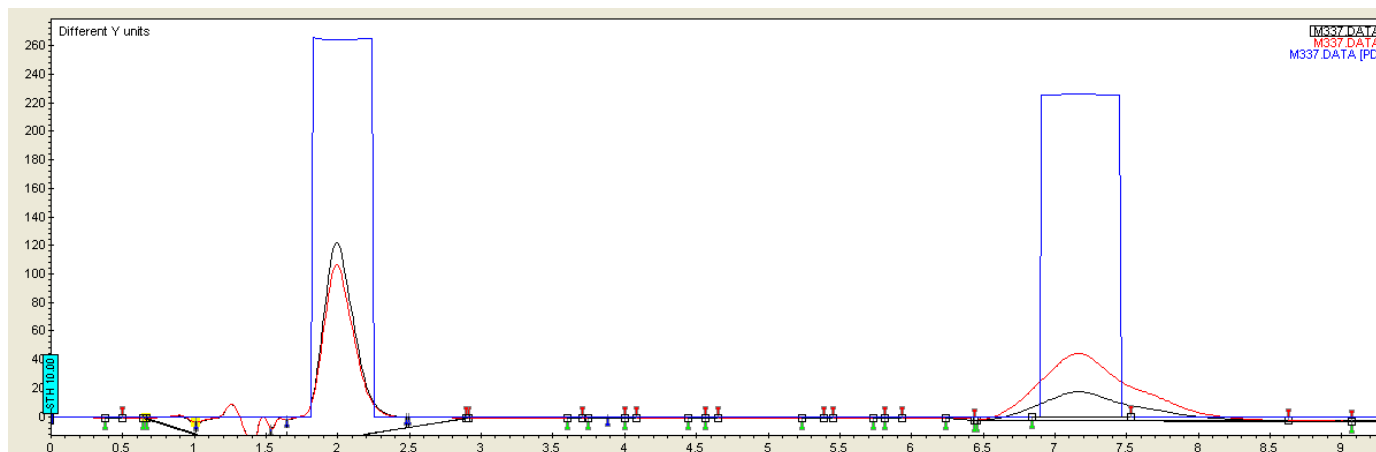


Abbildung 18 HPLC Diagramm von 0.3 mg Methylsalicylat

Tabelle 4 HPLC Messwerte von 0.3 mg Methylsalicylat

Kanal 1			Kanal 2		
Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU.min]	Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU.min]
1.27	28.1	6.2	1.27	29.3	6.6
1.99	137.4	41.2	1.99	122.1	37.6
7.16	20.1	15.4	7.16	47	36

Tabelle 5 Methylsalicylat Messwerte aus dem HPLC nach 3'320 s und 5'400 s

Kanal 2

Probe [s]	Zeit [min]	Fläche [mAU.min]	[mg] (im HPLC)	[g] (im Reaktionsansatz)	[mmol] (im Reaktionsansatz)
3'320	7.49	0.007	0.002	0.048	0.313
5'400	7.52	0.063	0.020	0.420	2.759

3.2 Diskussion der Methylsalicylat Daten im HPLC

Der Peak eines Stoffes hat immer eine gewisse Breite im HPLC, wie sich beim Ethanol (Abbildung 18, bei 2 min) und beim Methylsalicylat (Abbildung 18, bei knapp 7.2 min) zeigt. Diese Breite kommt dadurch zustande, dass nicht alle Moleküle eines Stoffes immer die identischen Wechselwirkungen mit der mobilen oder stationären Phase eingehen. Es ist viel wahrscheinlicher, dass ein Molekül mehr oder weniger Wechselwirkungen mit der stationären oder der mobilen Phase eingegangen ist als ein

anderes. So kommt es zum breiten «Bauch» um jeden Peak. So kann man sich trotzdem sicher sein, dass es sich um Methylsalicylat handelt, auch wenn die Retentionszeiten (Zeit [min]) der Proben aus der Tabelle 5 nicht mit den vom HPLC vorgerechneten Werten der Retentionszeit aus Tabelle 4 übereinstimmen. Denn in Abbildung 18 erkennt man zusätzlich, dass der Methylsalicylat-Peak bei 7.16 min eine deutliche «Schulter» über 7.5 min hinaus nachweist.

3.3 Resultate der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure im HPLC

In Abbildung 19 sieht man die Diagramme der Salicylsäurelösung mit 0.3 mg/mL und die Acetylsalicylsäurelösung mit 0.3 mg/mL. In der darunter liegenden Tabelle 6 findet man die numerischen Werte der HPLC-Analysen von 0.3mg/mL Acetylsalicylsäure sowie 0.1, 0.2 und 0.3 mg/mL Salicylsäure.

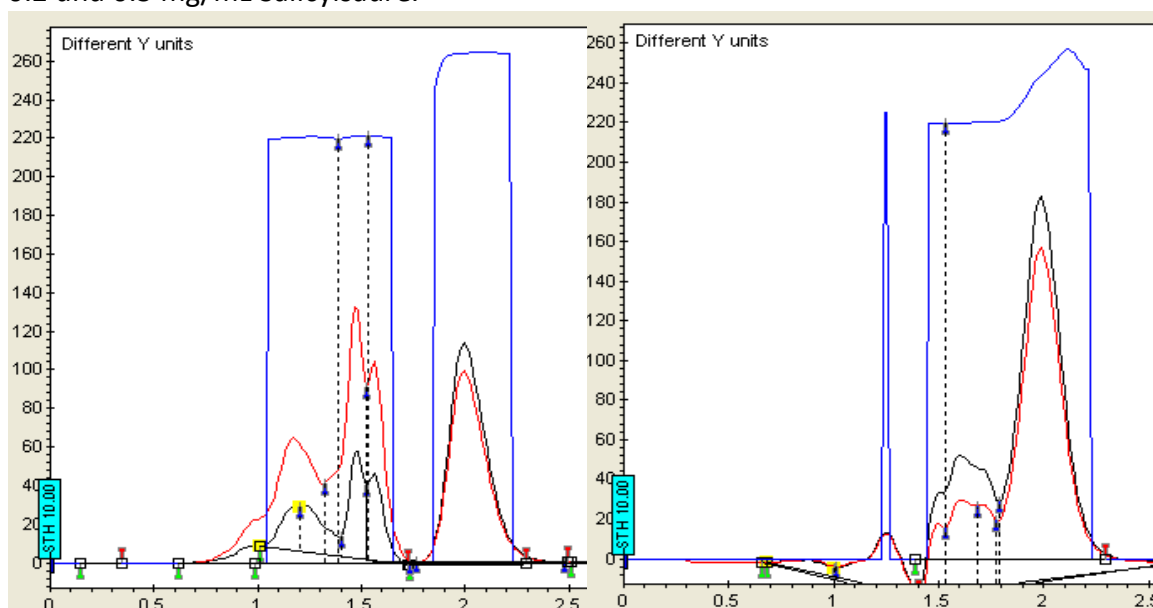


Abbildung 19 HPLC-Diagramm(v.l.n.r) von 0.3 mg/mL Salicylsäure und 0.3 mg/mL Acetylsalicylsäure

Tabelle 6 Messwerte aus dem HPLC von 0.3 mg/mL Acetylsalicylsäure, 0.1, 0.2 & 0.3 mg/mL Salicylsäure

Acetylsalicylsäure 0.3 mg/mL

Kanal 1			Kanal 2		
Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU.min]	Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]
0.88	0.029	0.023	0.89	0.045	0.041
1.25	0.145	0.114	1.25	0.175	0.143
1.6	0.350	0.408	1.6	0.279	0.153

Salicylsäure 0.1 mg/mL

Kanal 1			Kanal 2		
Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]	Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]
1.23	0.184	0.092	1.13	0.480	0.604
1.47	0.150	0.048	1.47	0.217	0.071
1.57	0.088	0.045	1.59	0.073	0.032

Salicylsäure 0.2 mg/mL

Kanal 1			Kanal 2		
Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]	Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]
1.23	0.211	0.123	1.13	0.528	0.603
1.49	0.324	0.132	1.47	0.834	0.481
1.6	0.230	0.123	1.59	0.601	0.332

Salicylsäure 0.3 mg/mL

Kanal 1			Kanal 2		
Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]	Zeit [min]	Höhe [mAU]	Fläche [mAU. min]
1.23	0.208	0.139	1.17	0.655	0.833
1.49	0.486	0.188	1.47	1.336	0.752
1.6	0.395	0.171	1.56	1.054	0.481

3.4 Diskussion der HPLC-Daten

Links bei der Salicylsäure Eichlösung in Abbildung 19, erkennt man mit einer Retentionszeit von rund 2 min immer Ethanol (ein Lösemittel), während sich bis zu drei unterschiedlichen Peaks zwischen 0.8 und 1.7 min häufen. Diese Peaks sind nur sehr gering vom Acetonitril, Wasser (Mobilephasen im HPLC) oder Verunreinigungen beeinflusst, da sie in der Abbildung 18 beim Methylsalicylat kaum vorhanden sind.

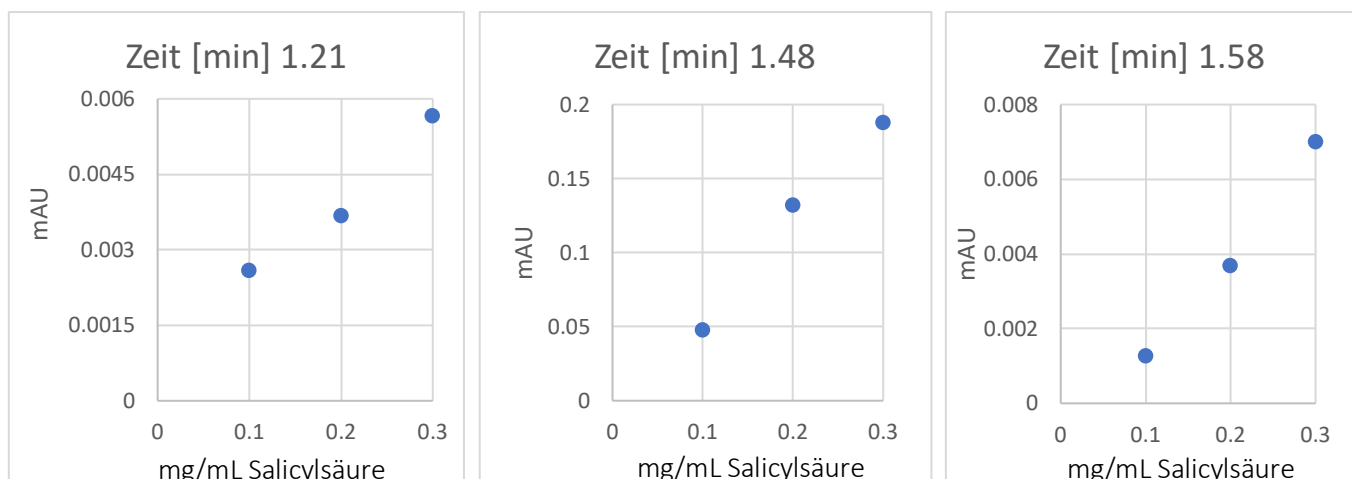


Abbildung 20 Diagramme der Integrale der Peaks aus den Salicylsäure-Eichlösungen mit einer Retentionszeit von 1.21, 1.48 und 1.58 [min] im Verhältnis zur Salicylsäurelösung [mg/mL] [Kanal 1]

Das Problem mit den drei Peaks ist, dass jeder Stoff eine spezifische Retentionszeit hat, wie man beim Ethanol (2 min) und beim Methylsalicylat (7.2 min) in der Abbildung 18 erkennt. Doch links in der Abbildung 19 wurde eine 0.3 mg/mL Salicylsäurelösung,

analysiert, insgesamt wurden hier aber vier signifikante Peaks registriert: Einer beim Ethanol (2 min) und die restlichen 3 Peaks weisen jeweils einen unterschiedlichen Stoff nach. Zusätzlich erkennt man in der Abbildung 20, dass sich diese Peaks in ihrem Integral ziemlich linear zur Konzentration der Salicylsäure verändern. Das heisst: Diese drei Stoffe stammen eindeutig aus der Salicylsäure.

Ein weiteres Problem ist, dass in der Acetylsalicylsäureprobe (rechts in Abbildung 19) ebenfalls eindeutig mehrere Stoffe vorhanden sind. Hinzu kommt, dass in Abbildung 19 links der rote Kanal (Kanal 2) eine deutlich höhere Absorption vermerkt, während im rechten Diagramm der schwarze Kanal (Kanal 1) wiederum eine höhere Absorption zwischen 0.8 und 1.7 min registriert.

Somit ist es schwierig zu sagen, wie eindeutig und fehlerfrei der HPLC funktioniert. Jedoch haben die Peaks von Ethanol und Methylsalicylat einwandfrei und konstant angegeben. Dennoch könnte man einige Vermutungen zu möglichen Fehlerquellen im HPLC äussern. Diesen wurde aber nicht weiter nachgegangen, da die Maschine unseren sehr erfahrenen Laboranten grosse Probleme bereitete.

Eine weitere Fehlerquelle ausserhalb des HPLCs könnte in der Reinheit der verwendeten Reagenzien liegen. Bei der Salicylsäure und der Acetylsalicylsäure könnte man eine solche Annahme aufgrund der Resultate in Abbildung 19 wagen. Dies ist jedoch vermutlich kein Problem beim Methylsalicylat, da dieses erst im Oktober frisch an die Kantonsschule Zug geliefert worden ist und nur als einen Peak im HPLC in der Abbildung 18 angegeben hat.

Aufgrund der oben beschriebenen Probleme mit dem HPLC, ist es nicht möglich eine quantitative Aussage zu den Mengen der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure zu machen. Deshalb wurden diese Daten nur für den quantitativen untersuch des Methylsalicylats verwendet.

Die Methylsalicylatproben wurden im HPLC nur im Kanal 2 betrachtet, da im Kanal 1 kein Integral bei beiden Proben gemessen werden konnte. Da heisst der Kanal 1 ist weniger sensitiv auf Methylsalicylat.

3.5 Resultate der Dünnschichtchromatographien

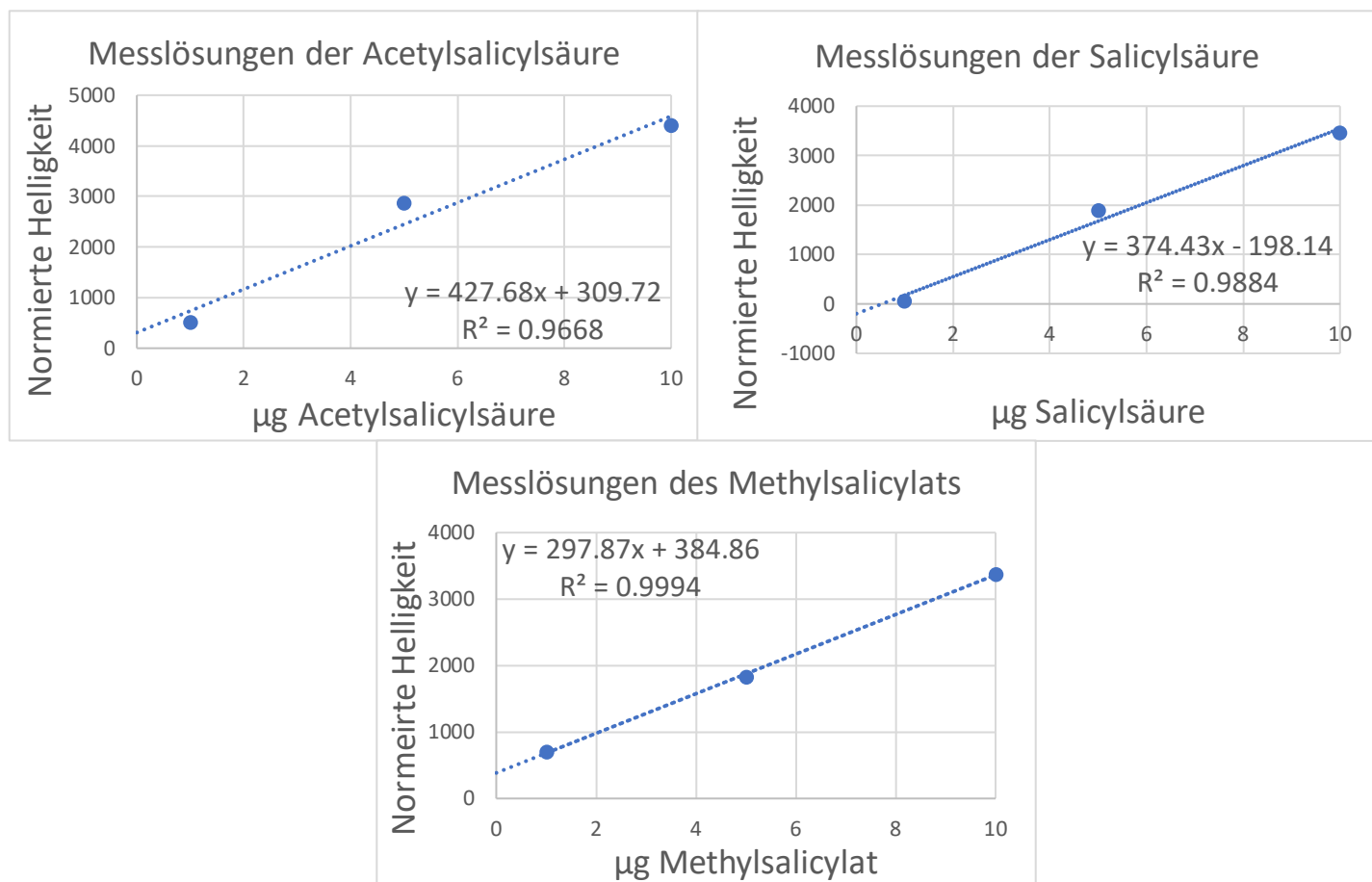
Abbildung 21 Diagramme der DC-Eichlösungen, v.l.n.r. ASA, SA und MS (unten) mit den Werten für die Regression, dem y-Achsenabschnitt und dem Determinationskoeffizienten R^2

Tabelle 7 Resultate der untersuchten Dünnschicht-Chromatographien

Zeitpunkt nach Katalysator Zugabe [s]	Acetylsalicylsäure [mmol]	Salicylsäure [mmol]	Methylsalicylat [mmol]
0	7.603	8.324	
10	5.651	10.068	
20	3.712	11.991	
40	3.095	10.900	
60		7.986	
120		13.046	
150		8.535	
200		24.697	
400		24.523	
800		11.206	
1200		9.259	
1600		7.681	
3320		6.375	0.467
5400		4.828	4.439

3.6 Diskussion der Acetylsalicylsäure und Salicylsäure Daten mittels DC

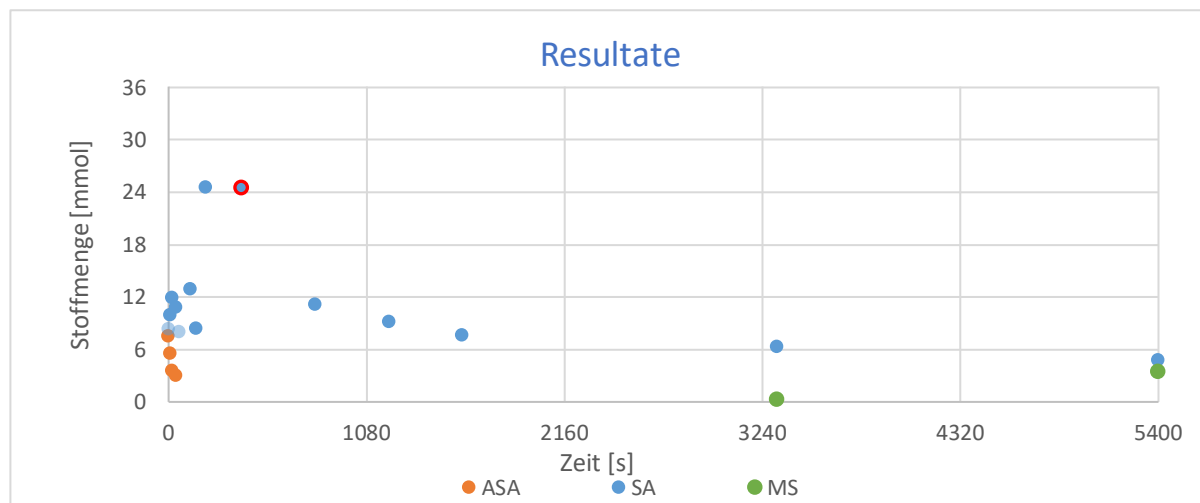


Abbildung 22 Resultate der DC Analysen (Durchschnittswert aus HPLC und DC bei Methylsalicylat (MS))

Die Proben der Salicylsäure (SA, blau in Abbildung 22) nach 0 und 60 s wurden transparent abgebildet, so dass die Probe der Acetylsalicylsäure nach 0 s erkennbar bleibt.

Die rot markierte Probe in Abbildung 22 und gelb umrahmt in Abbildung 23 ist mit viel Vorsicht zu geniessen, da sie am Rand verzerrt wurde und deshalb eine schlechte Trennleistung aufweist. Zusätzlich musste der sehr helle Plattenrand im Photoshop übermalt werden, dabei ging zwingenderweise eine gewisse Menge an Salicylsäure in der Analyse der Fotografien verloren. Da gleich zwei deutliche Faktoren gegen die Genauigkeit einer Probe sprachen, musste dies erwähnt werden.

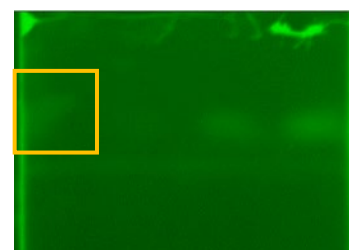


Abbildung 23 DC (v.l.n.r.) Probe nach 400s (gelb umrahmt), Eichlösungen mit 1, 5 & 10 µg Salicylsäure. (Invertiert und nur im Grünkanal abgebildet)

Man erkennt eine deutliche Abnahme der Acetylsalicylsäuremenge (ASA, orange in Abbildung 22), bis diese nach 40 Sekunden auf dem DC nicht mehr eindeutig nachweisbar war.

Dazu erkennt man eine sprunghafte Zunahme der Salicylsäure bis etwa um 200 Sekunden, ab 400 Sekunden beginnt dann wiederum deren Abnahme. Die Salicylsäuremenge scheint sich asymptotisch einem Wert über der x-Achse zu nähern. Dies geschieht über einen sehr langen Zeitraum von 90 Minuten. Daraus kann man schliessen, dass sich die Salicylsäure in einem Gleichgewicht befindet.

Erwähnenswert ist, dass die Acetylsalicylsäuremenge bereits vor der Säurekatalysatorzugabe nur noch bei etwa 20 % der Originalmenge von 36.1 mmol (im Zeitpunkt 0 s) lag. Dies war zu erwarten, da die Estergruppe der Acetylsalicylsäure bekanntlich ein sehr instabiler Bestandteil des Moleküls ist und auch nur bei 60°C in Methanol gelöst und ohne Säurekatalysator bereits reagieren kann (siehe Kapitel 1.4.1, Seite 7 in Abbildung 5 und Abbildung 6).

Beunruhigend ist hingegen, dass über die ersten vier Proben, die Summe der Stoffmengen von Salicylsäure und Acetylsalicylsäure im Schnitt nur totale 15 mmol

erreichte. Eine Möglichkeit wäre, dass sich die Acetylsalicylsäure ab ihrem Schmelzpunkt bei 140°C, bereits beim Auftragen der Proben aufs DC zersetzte¹². Denn beim Auftragen musste mit dem Heissluftföhn geheizt werden, um das Lösemittel zu verdampfen. Ansonsten wären die Banden zu breit aufgetragen worden. Jedoch wurde mit maximal 90°C geheizt. Da aber die Moleküle auch schon unter ihrem Schmelzpunkt instabil werden und sich im Fall der Acetylsalicylsäure teilweise zersetzen, könnten diese 90°C sich bereits negativ ausgewirkt haben.

Die Eichlösungen der Acetylsalicylsäure aus Abbildung 21 auf Seite 21 wurden jedoch unterschiedlich lang und intensiv beim Auftragen beheizt, das heisst, sie wären auch vom teilweisen Zerfall der Acetylsalicylsäure betroffen gewesen. Jedoch scheinen sie sich immer noch sehr proportional zu ihren eingewogenen Konzentrationen zu verhalten, dies sieht man sehr schön in Abbildung 21. Aufgrund dieses linearen Verhaltens, kann nicht abschliessend gesagt werden, wie signifikant der Zerfall der Acetylsalicylsäure wirklich war. Somit lässt sich damit die fehlende Stoffmenge unter den ersten vier Proben nicht abschliessend erklären.

3.7 Strichförmige Verunreinigung

Eine zusätzliche Schwierigkeit bei der Bestimmung und mögliche Erklärung für die fehlende Stoffmenge, der Acetylsalicylsäure, muss an dieser Stelle noch besprochen werden. Auf jedem DC war unter dem UV immer ein horizontaler Strich, der sich quer über eine Platte zog, zu erkennen. Dieser lag knapp über der Acetylsalicylsäure. In Abbildung 24 erkennt man drei Eichlösungen der Acetylsalicylsäure und knapp darüber die strichförmige Verunreinigung. Der Abstand vom «Strich» zu den Proben, war leider meistens viel geringer als in Abbildung 24. Dies erschwerte die Analyse erheblich.

Dieser Strich lässt sich nur schwer erklären, denn jede Probe wurde mit einem Radius von 5 mm aufgetragen, so hat jede Bande diese ungefähre Breite. Doch das sich eine solche Bande quer über das 40 mm breite DC erstreckt ist aus folgendem Grund sehr unwahrscheinlich: Jeder Stoff diffundiert bis zu einem gewissen Grad in horizontaler und vertikaler Richtung, doch dass eine so dünne Bande als Strich entstehen kann, müsste dieser Stoff fast ausschliesslich von extremer horizontaler Diffusion betroffen sein ohne vertikal signifikant zu diffundieren. Dies ist jedoch nur sehr schwer vorstellbar.

Die Annahme, dass der Strich aus mitgezogenem Material des Bleistifts stammt, würde erklären, wie ein Strich quer über die Platte kommt. Denn alle Proben wurden auf gleicher Höhe auf einem Bleistiftstrich aufgetragen, doch diese Hypothese konnte schnell widerlegt werden. In der Abbildung 25 sieht man oben drei Striche von unterschiedlichen Bleistiften, da nicht immer der gleiche Bleistift verwendet wurde. Unten in der Abbildung 25 erkennt man den «Strich», jedoch ist dieser

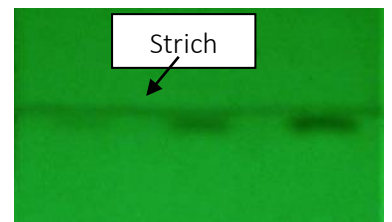


Abbildung 24 Strichförmige Verunreinigung knapp über Acetylsalicylsäure Eichlösungen (v.l.n.r. 1, 5 & 10 µg)

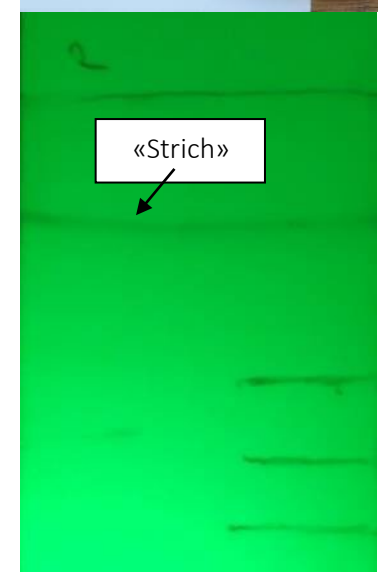


Abbildung 25 "Strichproblematik" in der DC

eindeutig nicht von den Bleistiftstrichen abhängig. Der «Strich» wird nicht vom Bleistift Material beeinflusst, er sieht identisch aus, aber er nun über Bleistiftmaterial gezogen ist oder nicht. Da sich kein Material auf dem DC befindet und der «Strich» trotzdem in Abbildung 25 angibt muss davon ausgegangen werden, dass der Strich aus dem Laufmittel oder einer Verunreinigung aller DC-Platten stammt.

Der Strich kann eigentlich nicht aus dem Laufmittel stammen, denn das Laufmittel wird konstant durch Kapillarkräfte nachgezogen. Würde ein Stoff aus dem Laufmittel unter dem UV wie der «Strich» angeben, so müsste dieser nicht homogen und nur zu einem Zeitpunkt mitziehen. Denn ansonsten würde ein UV-aktiver Stoff aus dem Laufmittel eine ganze Fläche und nicht nur ein Strich einfärben, da konstant neues Laufmittel (sprich neues Material vom «Strich») von den Kapillarkräften aufgezogen wird. Würde ein Stoff aus dem Laufmittel unter dem UV angeben, so würde man eine Verteilung wie in Abbildung 26 erwarten, als noch nicht alles Laufmittel verflüchtigte.



Abbildung 26 DC-Platte, bevor das Laufmittel verflüchtigte (Salicylsäure gibt blau im Laufmittel unter UV an, Kontrast wurde erhöht)

Des Weiteren kann der Strich eigentlich nicht von der DC-Platte stammen, da in jedem (!) Dünnschichtchromatogramm dieser Strich nachgewiesen werden konnte. Dazu müsste jede DC-Platte aus verschiedenen Verpackungen und verschiedenen Grössen ein und dieselbe Verunreinigung an beiden Enden (oben und unten) haben. Bei der Methodenentwicklung wurde mit der Grösse der DC-Platte experimentiert und auf jeder Platte gab es einen solchen «Strich». Zudem wurden die DC-Platten nicht in einheitlicher Orientierung präpariert, so müsste diese Verunreinigung an beiden Enden nachweisbar sein.

Es lässt sich somit nicht abschliessend sagen, woher dieser «Strich» genau stammt. Sehr wahrscheinlich stammt dieser trotzdem aus dem Laufmittel aus Methanol, Eisessig, Diethylether und Toluol (1+18+60+20), da auf denselben DC-Platten mit anderen Laufmitteln kein Strich beobachtet wurde.

3.8 Vergleich der Daten von Methylsalicylat aus der DC und dem HPLC

In der Abbildung 27 erkennt man die Anzahl mmol, die in der jeweiligen Probe mit der entsprechenden Methode bestimmt wurde. Die HPLC-Methode erreicht dabei in der Probe nach 3'320 s 67.0 % und in der Probe nach 5'400s nur 62.2 % der Anzahl mmol der DC. Ich hätte mich immer zu 100 % auf die DC-Methode verlassen, da der HPLC einige grosse und ungeklärte Fragen aufwirft (siehe Kapitel 3.4), ausser in diesem Fall. Denn mit der Entwicklung der Proben im Kaliumpermanganat verschlechterte sich die Trennleistung massiv, wie man in Abbildung 28 erkennt.

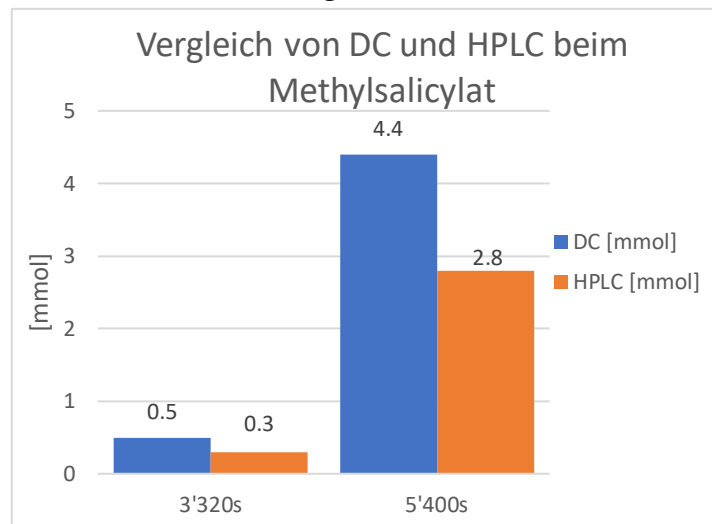


Abbildung 27 Vergleich von DC und HPLC am Methylsalicylat

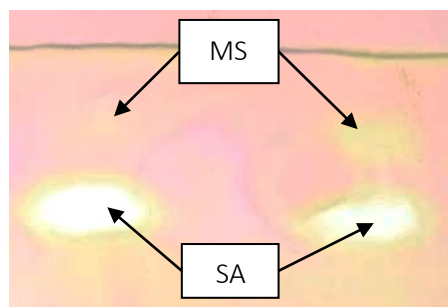


Abbildung 28 v.l.n.r. Probe 3'320s und Probe 5'400s im Kaliumpermanganat entwickelt

In Abbildung 28 wurde mit Pfeilen die Salicylsäure (SA) und das Methylsalicylat (MS) markiert. Da aber auch etwas entfernte Bereiche rund um die ansonsten relativ definierte Bande des Methylsalicylats sich verfärbt haben wurde versucht, auch dieses Material mit dem Programm zu quantifizieren⁸. Ob dabei zu viel Material erwischt wurde oder nicht, lässt sich aufgrund der Probleme mit dem HPLC schlecht beurteilen. Da ["man" vermeiden]aber nach dem entwickeln im Kaliumpermanganat das Material über eine grössere Fläche verteilt wurdeauftraten [welche Mängel sind dabei gemeint?], ist ein Kompromis eingegangen worden, indem der Durchschnitt der DC und HPLC Werte verwendet wurde. Dabei wurden einige Ungenauigkeiten in Kauf genommen. Es lässt sich nicht abschliessend sagen, welche Methode, DC oder HPLC, in diesem Fall ein genaueres Resultat ergeben hat.

3.9 Modellerte Reaktionsgeschwindigkeiten und Reaktionskonstanten

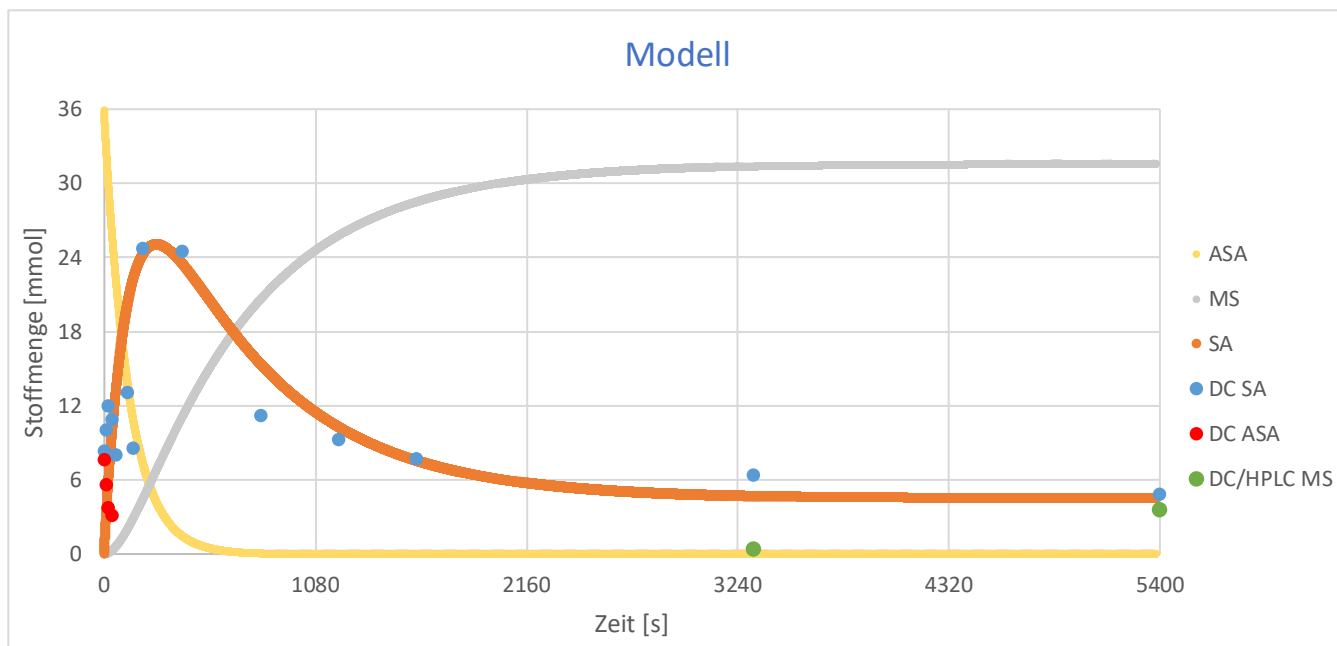


Abbildung 29 Modellierter Reaktionsmechanismus anhand der Salicylsäuremengen

Im folgenden Abschnitt wird die näherungsweise Bestimmung der Geschwindigkeits- und Gleichgewichtskonstanten und die Simulation der ablaufenden Reaktion beschrieben. Diese wurden nicht wie üblich im Stoffmengenanteil (Molenbruch), sondern in den effektiven molaren Mengen angegeben. Da aber alle Angaben in mmol gemacht wurden, ist dies kein Problem. Um den Molenbruch bzw. Stoffmengenanteil zu erhalten, müssten alle Angaben durch die totale molare Stoffmenge geteilt werden und da dies im vorliegenden Fall die Konstanten nicht verändern würde, macht dies keinen Unterschied und man kann ebensogut in molaren Stoffmengen wie in Stoffmengenanteilen rechnen.

Bei der Analyse der Salicylsäure in der DC traten am wenigsten Probleme auf. Die Salicylsäurebanden wurden nie durch einen Strich verdeckt (Acetylsalicylsäure) oder hatten Probleme mit dem Entwickler-Reagenz (Methylsalicylat) da sie unter dem UV quantifiziert wurden. Da sich die Salicylsäure über die ganze Versuchszeit auftrat und sich ihre Stoffmenge am genauesten bestimmen liess wurden die Salicylsäurekonzentrationen als Grundlage verwendet, um Simulationsmodelle der ablaufenden Reaktionen zu simulieren. Das Ergebnis dieser Simulation sieht man in der Abbildung 29.

In einem ersten Schritt wurde die Gleichgewichtsreaktion zwischen der Acetylsalicylsäure (ASA) und dem Methanol hin zur Salicylsäure (SA) und dem Essigsäuremethylester modelliert. Da der beinahe konstante Überschuss an Methanol und den als Nebenprodukt entstandenen Essigsäuremethylester keinen Einfluss auf die Stöchiometrie haben, wurden diese Angaben nicht zur Berechnung der Stoffmengen der Acetylsalicylsäurederivaten benötigt.

Mit Hilfe von thermodynamischen Daten (Bildungsenthalpie ΔH°_f und Bildungsentropie ΔS°) liessen sich die Reaktionsenthalpie ΔH_R und Reaktionisentropie ΔS_R dieser Reaktion berechnen. Daraus konnte dann ein Wert für die Gleichgewichtskonstante berechnet werden. Folgende Werte konnten für die Reaktion der Acetylsalicylsäure zur Salicylsäure abgeschätzt werden: $\Delta H_R = -191 \text{ kJ/mol}$ und $\Delta S_R = 0.085 \text{ kJ/mol/K}^{13}$.

Daraus ergibt sich mit den Werten für die Gaskonstante R (8.314 J/mol/K) und der Temperatur des Reaktionsansatzes T in Kelvin (333.15°K) ein Wert für die Gleichgewichtskonstante K_1 und damit für das Verhältnis von $\frac{RG1_{Hin}}{RG1_{Rück}}$.

$$K_1 = e^{-\frac{\Delta H_R}{R \cdot T} + \frac{\Delta S_R}{R}} = 2.4 \cdot 10^{34}$$

Die abgeschätzten Daten sind vermutlich sehr ungenau. Doch auch wenn der Wert der Reaktionsenthalpie (ΔH_R) in Wahrheit nur -19.1 kJ/mol beträgt, so wäre die Hinreaktion immernoch $2.7 \cdot 10^7$ mal schneller als die Rückreaktion. Würde die Reaktionsentropie (ΔS_R) nur 8.5 J/mol/K betragen, so wäre die Hinreaktion immernoch $2.5 \cdot 10^{30}$ mal schneller als die Rückreaktion. Aufgrund dieser sehr hohen Gleichgewichtskonstanten und den damit verbundenen Reaktionsgeschwindigkeiten konnte man davon ausgehen, dass die Rückreaktion nicht berücksichtigt werden musste, da das Gleichgewicht so produktseitig liegt. Die Menge der Acetylsalicylsäure zu einem bestimmten Zeitpunkt liess sich also aus den Mengen der verschiedenen Reaktanden ein Einzeits-Zeitintervall vorher wie folgt berechnen:

$$ASA_n = ASA_{n-1} - RG_1 \Delta t = ASA_{n-1} - k_1 \cdot ASA_{n-1} \cdot \Delta t$$

In einem zweiten Schritt wurde die Gleichgewichtsreaktion zwischen der Salicylsäure (SA) und dem Methanol hin zum Methylsalicylat (MS) und dem Wasser untersucht. Wie zuvor wurde hier wiederum der stöchiometrische Einfluss des Methanols und des Wassers vernachlässigt. Dazu konnte ebenfalls aus der Literatur eine erste Gleichgewichtskonstante abgeschätzt werden. Und zwar mit einer Reaktionsenthalpie (ΔH_R) von 5.59 kJ/mol und einer Reaktionsentropie (ΔS_R) von $3.25 \text{ J/mol/K}^{14}$. Daraus ergibt sich mit den Werten für die Gaskonstante R (8.314 J/mol/K) und der Temperatur des Reaktionsansatzes T in Kelvin (333.15°K) ein Wert für die Gleichgewichtskonstante K_2 .

$$K_2 = e^{-\frac{\Delta H_R}{R \cdot T} + \frac{\Delta S_R}{R}} = 11.117$$

Diese Gleichgewichtskonstante liegt in einem Rahmen, in dem mit einer signifikanten Rückreaktion gerechnet werden muss. So setzt sich die Menge der Salicylsäure im Modell wie folgt zusammen:

$$SA_n = SA_{n-1} + RG_1 \cdot \Delta t - RG_{2 \text{ Hin}} \cdot \Delta t + RG_{2 \text{ Rück}} \cdot \Delta t$$

$$SA_n = SA_{n-1} + k_1 \cdot ASA_{n-1} \cdot \Delta t - k_{2 \text{ Hin}} \cdot SA_{n-1} \cdot \Delta t + k_{2 \text{ Rück}} \cdot MS_{n-1} \cdot \Delta t$$

Und die Menge des Methylsalicylats lässt sich so berechnen:

$$MS_n = MS_{n-1} + RG_{2 \text{ Hin}} \cdot \Delta t - RG_{2 \text{ Rück}} \cdot \Delta t$$

$MS_n = MS_{n-1} + k_{2\text{ Hin}} \cdot SA_{n-1} \cdot \Delta t - k_{2\text{ Rück}} \cdot MS_{n-1} \cdot \Delta t$ Die modellierten Stoffmengenverläufe wurden optisch so angepasst, dass die Werte der Geschwindigkeitskonstanten, «k1», «k2 Hin» und «k2 Rück» verändert wurden, bis diese den Reaktionsverlauf der Salicylsäure zufriedenstellend beschrieben. Dabei wurden folgende Werte abgeschätzt:

Tabelle 8 Resultate des simulierten Modells [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$] ausser bei K2, denn K2 beschreibt das Verhältnis von k2 Hin zu k2 Rück.

k1	k2 Hin	k2 Rück	K2
0.008	0.0014	0.0002	7

3.10 Diskussion des Modells

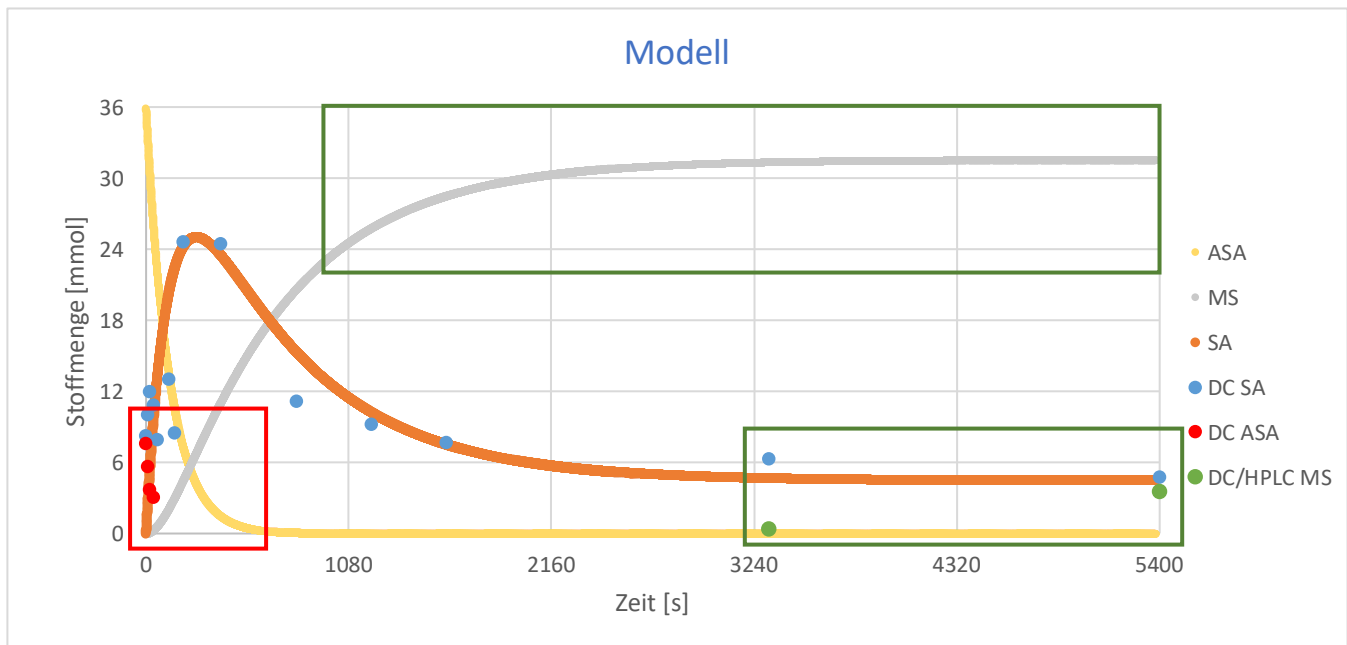


Abbildung 30 Diskussion des Modells

Es ist gut zu erkennen, wie die Kurven im Einklang mit den Salicylsäuremengen sind, die mittels DC relativ sicher bestimmt werden konnten. Die Abnahme der Acetylsalicylsäure stimmt qualitativ mit der entsprechenden Kurve überein, wenn auch zu jedem Zeitpunkt viel mehr Acetylsalicylsäure vorliegen müsste. Besonders gross ist aber die Diskrepanz zwischen Messungen und Modell beim Methylsalicylat. Da keine weiteren Spezies berücksichtigt wurden, müssten Summe der Mengen an Acetylsalicylsäure, Salicylsäure und Methylsalicylat konstant bleiben. Dies trifft aber nicht zu. Stattdessen steigt die Salicylsäurekonzentration an und sinkt danach wieder ab, ohne dass die verschwindende Menge zu nachweisbarem Ester umgewandelt würde.

3.10.1 Probleme mit der Konzentrationsbestimmung der Acetylsalicylsäure

In der Rot umrahmten Fläche (Abbildung 30) erkennt man, dass die gemessene (rote Punkte) und die modellierte (gelbe Gerade) Acetylsalicylsäuremengen stark abnehmen. Die Acetylsalicylsäure wurde mit abnehmender Menge immer schlechter vom «Strich» unterscheidbar, so sind alle kleinen Mengenangaben der Acetylsalicylsäure sehr vorsichtig zu geniessen sind.

Weitere Probleme wurden bereits im Kapitel 3.5 diskutiert.

3.10.2 Probleme mit der Konzentrationsbestimmung des Methylsalicylats

Das grösste Problem bleibt jedoch die scheinbare Abwesenheit des Methylsalicylats. Einige Problemzonen wurden in Abbildung 30 grün umrahmt. Von den ursprünglichen [original wäre englisch] 36.1 mmol Acetylsalicylsäure wären mit den Ergebnissen aus der DC und dem HPLC nach 3'320 Sekunden (etwa 55 min) nur 0.4 mmol und nach 5'400 Sekunden (90 min) 3.6 mmol Methylsalicylat synthetisiert worden. Dies entspricht einer Ausbeute von etwa 10 % nach 90 Minuten. Hingegen wäre nach der Modellierung anhand der gemessenen Salicylsäuredaten in Abbildung 29, nach 90 min 31.6 mmol Methylsalicylat zu erwarten. Dies entspräche einer theoretischen Ausbeute von etwa 87 %. Jedoch berichtet A. Hartel und sein Team bei ihrer Methode von einer tieferen Ausbeute von bis zu 70 %⁶.

Auch beim Methylsalicylat liegt der Verdacht auf Zerfall oder Verdampfen beim Heizen mit dem Heissluftföhn nahe. Jedoch lässt sich mit dem Siedepunkt des Methylsalicylats, welcher mit etwa 220°C weit über der maximalen Temperatur des Heissluftföhns mit etwa 90°C liegt, nur schwer dafür argumentieren¹⁵. Zudem ergab die Eichlösung des Methylsalicylats in Abbildung 21 einen linearen Zusammenhang mit dem Detektorsignal, dafür dass die Proben beim Aufrufen unterschiedlich lange und intensiv beheizt wurden.

Das Spannende an der ganzen Sache ist, dass die Eichlösungen aus Abbildung 21 (Seite 21) sich so linear verhalten (durchschnittlicher Wert für die Determinationskoeffizienten R^2 von 98.5 %). . Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass die Konzentrationsbestimmung der Salicylsäure mittels DC-Platten hinreichend genau war. Denn wenn ein Stoff, sei es vom Heizen oder von einem anderen Stoff aus dem Laufmittel, beeinflusst worden wäre, sprich eine Reaktion oder ähnliches eingegangen wäre, so dass der Stoff nicht mehr oder schlechter nachgewiesen werden konnte, so wären auch die Eichlösungen den identischen Bedingungen ausgesetzt. Sprich, wenn 50 % des Methylsalicylats in der DC verloren gegangen wäre, so hätten auch die Methylsalicylat-Eichlösungen 50 % ihrer Stoffmenge verlieren müssen .

Leider fehlen hier entscheidende Daten über aufgereinigtes Methylsalicylat aus dem Reaktionsmechanismus, da nach 90 Minuten der Reaktionsansatz entsorgt wurde und man sich vollends auf die DC verliess.

3.10.3 Diskussion der Gleichgewichtskonstanten

Trotz den oben beschriebenen Problemen, stellt das Modell die belastbarste mögliche Modellierung des Reaktionssystems dar, da das Modell basieren auf den Messwerten für die Salicylsäurekonzentration simuliert wurde und diese Daten kaum Probleme bereiteten. So wurde mit diesem Modell eine Gleichgewichtskonstante (K_2) im Wert von etwa 7 berechnet. Diese kommt dem Literaturwert von 11.1 sehr nahe.

4 Schlusswort und Dank

In dieser Arbeit gelang es, die Gleichgewichts- und Geschwindigkeitskonstanten aus den Zeitverläufen der Umwandlungsreaktionen zwischen Aspirin, Salicylsäure und Methylsalicylat abzuschätzen. Der Weg dahin war nicht gerade einfach und es galt immer wieder, Hindernisse zu überwinden. Leider konnte ich mich auf ein wichtiges Messinstrument — den HPLC — nicht verlassen. Um dennoch gute Messresultate zu erhalten, wurde die Dünnschichtchromatographie perfektioniert. Schliesslich gelang es, die Konzentration der Salicylsäure zuverlässig zu bestimmen. Die Konzentrationen der ASA und der MS liessen sich mit DC nur sehr ungenau bestimmen und die bestimmten Konzentrationen lagen deutlich tiefer als erwartet. Das Modell beruht daher hauptsächlich auf den zuverlässigsten Daten, dem Konzentrationsverlauf der SA. Die im Modell simulierten Konstanten stimmen zufriedenstellend mit denjenigen aus der Literatur überein.

Im selben Atemzug ist es mir aber wichtig, die signifikante Rolle von Urs Leisinger zu erwähnen. Ohne ihn wäre ich noch viel länger im Labor gestanden. Ich konnte mich immer auf seine zeitnahen und kompetenten Ratschläge verlassen. Zusätzlich wären ohne sein Programm keine quantitativen Aussagen gelungen. Weiter möchte ich mich bei unseren Laboranten, Stefan Küffer und Martin Schmid, bedanken. Ein besonderer Dank geht auch an meinen Co-Referenten Per Helge Antonsen.

Last but not least möchte ich mich auch noch bei meiner Mutter Anita Zimmermann für das Gegenlesen dieser Arbeit bedanken. Sie konnte ihr Chemie-Trauma, dass sie 1990 bis 1992 am Kollegium in Altdorf erlitten hat, nun hoffentlich überwinden.

Spass hat mir vor allem die Arbeit im Labor gemacht. Auch wenn die Tage manchmal lang waren, habe ich viel gelernt. Die Verschriftlichung aller Ergebnisse war eine Herausforderung, die ich nun hinter mir habe.

5 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

5.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Darstellung einer Dünnschichtchromatographie ⁴	5
Abbildung 2 Varian 920-LC Flüssig-Chromatograph an der KSZ.....	6
Abbildung 3 schematisches Diagramm eines UV-Detektors ⁵	6
Abbildung 4 Überblick vom Reaktionsmechanismus	Error! Bookmark not defined.
Abbildung 5 Nukleophiler Angriff von Methanol auf Acetylsalicylsäure (R entspricht einem Benzol mit einer Karbonsäuregruppe).....	7
Abbildung 6 Umprotonierung (R entspricht einem Benzol mit einer Karbonsäuregruppe)	8
Abbildung 7 Nukleophiler Angriff auf protonisierte Acetylsalicylsäure	8
Abbildung 8 Umprotonierung mit protonisierter Estergruppe (R entspricht einem Benzolring mit einer Karbonsäuregruppe).....	9
Abbildung 9 Nukleophiler Angriff von Methanol auf Salicylsäure inklusive Umprotonierung (R entspricht einem Phenol)	9
Abbildung 10 Nukleophiler Angriff auf protonierte Salicylsäure	10
Abbildung 11 Umprotonierung bei bereits protonierter Karbonsäuregruppe (R entspricht einem Phenol)	10
Abbildung 12 Versuchsaufbau	11
Abbildung 13 Kamera-Einrichtung.....	13
Abbildung 14 Eichlösungen der Acetylsalicylsäure (v.l.n.r. 1.0, 5.0 & 10.0 µg)	13
Abbildung 15 Frequenz der Pixel sortiert nach ihrer Helligkeitsstufe bei der Eichlösung von 5 µg Acetylsalicylsäure.....	14
Abbildung 16 DC-Eichlösungen der Acetylsalicylsäure	15
Abbildung 17 Diagramm der HPLC Analyse von Ethanol.....	15
Abbildung 18 HPLC Diagramm von 0.3 mg Methylsalicylat	17
Abbildung 19 HPLC-Diagramm(v.l.n.r) von 0.3 mg/mL Salicylsäure und 0.3 mg/mL Acetylsalicylsäure	18
Abbildung 20 Diagramme der Integrale der Peaks aus den Salicylsäure-Eichlösungen mit einer Retentionszeit von 1.21, 1.48 und 1.58 [min] im Verhältnis zur Salicylsäurelösung [mg/mL].....	19
Abbildung 21 Diagramme der DC-Eichlösungen, v.l.n.r. ASA, SA und MS (unten) mit den Werten für die Regression, dem y-Achsenabschnitt und dem Determinationskoeffizienten R ²	21
Abbildung 22 Resultate der DC Analysen (Durchschnittswert aus HPLC und DC bei Methylsalicylat (MS).....	22
Abbildung 23 DC (v.l.n.r.) Probe nach 400s (gelb umrahmt), Eichlösungen mit 1, 5 & 10 µg Salicylsäure. (Invertiert und nur im Grünkanal abgebildet).....	22
Abbildung 24 "Strich" knapp über Acetylsalicylsäure Eichlösungen (v.l.n.r. 1, 5 & 10 µg)	23
Abbildung 25 "Strichproblematik" in der DC.....	23
Abbildung 26 DC-Platte, bevor das Laufmittel verflüchtigte (Salicylsäure gibt blau im Laufmittel unter UV an, Kontrast wurde erhöht)	24
Abbildung 27 Vergleich von DC und HPLC am Methylsalicylat	25
Abbildung 28 v.l.n.r. Probe 3'320s und Probe 5'400s im Kaliumpermanganat entwickelt	25
Abbildung 29 Modellierter Reaktionsmechanismus anhand der Salicylsäuremengen	26
Abbildung 30 Diskussion des Modells	28

5.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Chemikalien.....	11
Tabelle 2 Materialien.....	11
Tabelle 3 Zeitpunkt der Probeentnahme nach Zugabe des Säurekatalysators.....	12
Tabelle 4 HPLC Messwerte von 0.3 mg Methylsalicylat.....	17
Tabelle 5 Methylsalicylat Messwerte aus dem HPLC nach 3'320 s und 5'400 s	17
Tabelle 6 Messwerte aus dem HPLC von 0.3 mg/mL Acetylsalicylsäure, 0.1, 0.2 & 0.3 mg/mL Salicylsäure ..	18
Tabelle 7 Resultate der untersuchten Dünnschicht Chromatographien	21
Tabelle 8 Resultate des simulierten Modells.....	28

6 Literaturverzeichnis

1. Stahl, E. *Dünnschicht-Chromatographie: Ein Laboratoriumshandbuch*. (Springer, 1967).
2. Dünnschichtchromatographie. *Wikipedia* (2022).
3. Bauer, S. & König, S. Grundlagen_der_Duennschicht_und_Saeulenchromatographie.pdf.
4. Quantockgoblin. Tlc sequence.png. (2008).
5. Jupille, T. & Dolan, J. W. Getting Started in HPLC. (2001).
6. Hartel, A. M. & Hanna, J. M. Preparation of Oil of Wintergreen from Commercial Aspirin Tablets. A Microscale Experiment Highlighting Acyl Substitutions. *J. Chem. Educ.* **86**, 475 (2009).
7. Olechno, J. Synthesis of methyl Salicylate from Aspirin. (2021).
8. Leisinger, U. *_select_pixelintegrator_10*. (Kantonschule Zug, 2021).
9. Zöfel, P. *Statistik in der Praxis*. (Gustav Fischer Verlag, 1992).
10. Franeta, J. T. *et al.* HPLC assay of acetylsalicylic acid, paracetamol, caffeine and phenobarbital in tablets. *Farm. Soc. Chim. Ital.* **1989** **57**, 709–713 (2002).
11. Stahl, M. Peak purity analysis in HPLC and CE using diode-array technology. (2003).
12. PubChem Compound Summary for CID 2244, Aspirin. *National Center for Biotechnology Information* (2022).
13. Leisinger, U. Umesterung_Aspirin_TD__20220104_14h29_42.xls. (2022).
14. Yang, G. *et al.* Study on Methyl Esterification of Salicylic Acid Using an Intensified Fixed Bed Reactor. *Int. J. Chem. React. Eng.* **17**, 20180210 (2019).
15. PubChem Compound Summary for CID 4133, Methyl Salicylate. *National Center for Biotechnology Information* (2022).

Anhang

Alle relevanten Bilder, Messresultate und weiteres finden sich im [digitalen Anhang](#).