

HANS PAUL KAUFMANN und DIPTI KALYAN CHOWDHURY

Die katalytische Hydrierung organischer Verbindungen auf Papier zur papierchromatographischen Analyse

Aus dem Deutschen Institut für Fettforschung, Münster (Westf.)

(Eingegangen am 27. Juni 1958)

Man erzeugt auf zur papierchromatographischen Analyse benutztem Papier in der Startlinie katalytisch wirksame Metalle, wie z. B. Palladium, in feinverteilter Form, trägt die zu untersuchende Analysesubstanz — ungesättigte Fettsäuren, Nitroverbindungen, Nitrile, Farbstoffe usw. — in Lösung auf die Metallflecke auf, reduziert in Wasserstoff-Atmosphäre und führt dann die Papierchromatographie in üblicher Weise durch.

Bei der qualitativen und quantitativen Analyse von Fettsäure-Gemischen auf papierchromatographischem Wege¹⁾ können Fettsäuren mit gleichen R_F -Werten auftreten, so z. B. die „kritischen Paare“ Ölsäure/Palmitinsäure, Myristinsäure/Linolsäure und Laurinsäure/Linolensäure. Ihre Trennung läßt sich auf Grund veränderter Löslichkeitsverhältnisse durch den Wechsel der Entwicklungstemperatur erreichen (z. B. „Tiefemperatur-Chromatographie“²⁾). Oder man chromatographiert, wenn ungesättigte Komponenten vorliegen, nebeneinander die unveränderte und die katalytisch hydrierte Fettsäure-Mischung („Hydrier-Differenz-Methode“³⁾) am besten im System Undecan (stationär)/Essigsäure (mobil). Der qualitative und quantitative Nachweis der getrennten Fettsäuren erfolgt durch ihre Umwandlung in die Kupferseifen und Überführung des darin enthaltenen Kupfers in Kupferhexacyanoferrat(II)⁴⁾. Nachdem uns hier und in anderen Fällen die Durchführung chemischer Reaktionen — Diensynthesen bei Konjuensäuren, Erzeugung von Seifen radioaktiver Metall-Isotope, Addition von Quecksilberacetat an ungesättigte Fettsäuren und Fettsäureamide usw. — zwecks Trennung oder Identifizierung *auf dem Papier* gelungen war, sind wir nunmehr dazu übergegangen, auch die katalytische Hydrierung auf dem Papier, und zwar mit Hilfe eines vorher auf dieses aufgebrauchten Katalysators, vorzugsweise mit feinverteilter Palladium, durchzuführen.

Auf die schwarzen Palladium-Flecke tropft man, gegebenenfalls nach Hydrophobierung des Papiers, die Lösung der zu analysierenden Substanz, läßt das Lösungsmittel verdunsten und bringt das Chromatogramm in einen Exsikkator, der nach 3maligem

¹⁾ H. P. KAUFMANN und Mitarbb., *Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel* **52**, 331, 713 [1950]; **53**, 253, 390, 692 [1951]; **54**, 7 [1952]; **56**, 154 [1954]; **57**, 473, 883 [1955]; **58**, 234, 492, 985 [1956]; **59**, 815 [1957].

²⁾ H. P. KAUFMANN und E. MOHR, *Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel* **60**, 165 [1958].

³⁾ H. P. KAUFMANN, H. KIRSCHNEK und A. KARABATUR, *Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel* **59**, 920 [1957]; H. P. KAUFMANN und A. KARABATUR, *Die Nahrung* **2**, 61 [1958].

⁴⁾ Dieses Trennungsverfahren ist zuerst von H. P. KAUFMANN und W. H. NITSCH durchgeführt worden, wie im Hinblick auf irrtümliche Literatur-Angaben bemerkt sei (*Analytical Abstr.* **3**, 1052 [1956]; *C.* **1957**, 5955; E. KLENK und W. MONTAG, *Liebigs Ann. Chem.* **604**, 4 [1957]).

Ausspülen mit Wasserstoff mit diesem Gas gefüllt wird. In Anbetracht der feinen Verteilung des Katalysators und seiner im Vergleich zu der Analysensubstanz großen Menge geht die Reduktion in der Regel bereits bei Raumtemperatur und sehr schnell vor sich.

Die neue Methode, die sich auch quantitativ auswerten läßt, kann eine umfassende Anwendung erfahren. Sie wird besonders dann wertvoll sein, wenn es sich um schwer wandernde und schwer auf Papier nachweisbare Stoffe handelt, die der katalytischen Hydrierung zugänglich sind. Mit dem weiteren Ausbau sind wir beschäftigt.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Herstellung des Palladium-Papiers

Eine unter Erwärmen hergestellte 5-proz. Palladiumchlorid-Lösung in 20-proz. Salzsäure läßt man einmal oder mehrmals auf beiden Seiten des Papiers in der Startlinie aus einer Mikropipette in einer Menge von etwa 15–20 γ Palladium auftropfen. Nach Trocknung bei Raumtemperatur wird eine jeweils frisch bereitete Lösung, hergestellt aus 80 ccm 20-proz. Kalilauge und 20 ccm 40-proz. Formaldehyd, auf die gleichen Stellen, wieder auf beiden Seiten, tropfenweise derart aufgebracht, daß der Durchmesser der hierbei entstehenden schwarzen Palladium-Flecke nicht größer als etwa 1 cm wird. Nun taucht man das Papier 10 Min. in 5-proz. Essigsäure ein, wäscht 5–6mal mit Wasser aus, preßt zwischen Filterpapier ab und trocknet anschließend, z. B. bei 90°, im Trockenschrank. Damit ist das Papier für die chromatographische Analyse vorbereitet. Obwohl der Katalysator bei Auftrocknung des Palladium-Papiers (das auch als Rundfilter zubereitet werden kann) im Vakuum oder in einem inerten Gas längere Zeit aktiv bleibt, empfiehlt sich die Herstellung, die einschließlich Trocknung nur etwa 30 Min. erfordert, unmittelbar vor Beginn der pc-Analyse⁵⁾.

Anwendung zur pc-Fettanalyse

Vorversuche: a) Das mit den Palladium-Flecken versehene Papier (SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b) wird mit Undecan, das vorher mit 95-proz. Essigsäure gesättigt war, in der früher beschriebenen Weise⁶⁾ imprägniert. Nach Trocknung an der Luft (10 Min.) trägt man eine Mischung von Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure, gelöst in Toluol, einmal auf die Mitte des Palladium-Fleckes, durch welche die Startlinie geht, ein zweites Mal in einiger Entfernung daneben auf. Dann bringt man den Streifen in einen Vakuum-Exsikkator, spült die Luft mit Wasserstoff heraus und läßt 5 Min. in der Wasserstoff-Atmosphäre stehen. Entwickelt man nun mit 95-proz. Essigsäure, so wandert oberhalb des Palladium-Fleckes nur die aus den 3 Säuren gebildete Stearinsäure. Es ist also trotz der kurzen Einwirkungszeit eine quantitative Hydrierung eingetreten. Oberhalb des palladiumfreien Fleckes erschienen die getrennten Säuren.

b) Um sicher zu sein, daß bei quantitativer Auswertung des Chromatogramms das auf dem Papier befindliche Palladium die R_F -Werte der aufgetragenen Fettsäuren nicht verändert

	Ölsäure	Linolsäure	Linolensäure
Ohne Pd	36.4	33.2	30.7
Mit Pd (1. Fleck)	35.8	32.8	31.2
Mit Pd (2. Fleck)	36.2	33.0	30.6

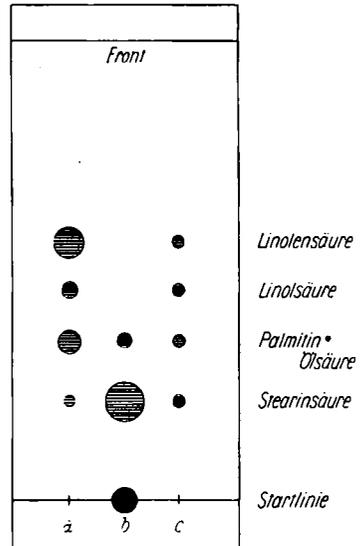
(etwa durch unterschiedliche Adsorption), brachte man auf 2 Palladium-Flecke und dazwischen auf das palladiumfreie Papier das Gemisch der Säuren auf und entwickelte ohne

⁵⁾ pc-Analyse = Abkürzung für „papierchromatographische Analyse“.

⁶⁾ H. P. KAUFMANN und W. H. NITSCH, Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel 56, 154 [1954].

Hydrierung in üblicher Weise. Dann zerschnitt man das Papier in 3 Streifen und photometrierte das Kupferhexacyanoferrat(II) nach A. SEHER⁷⁾. Bei Auswertung ergab sich vorstehendes Bild des Fettsäuregehaltes in %.

Papierchromatogramme der Fettsäuren eines Leinöls.
a) Gesamtfettsäuren des Leinöls,
b) Pd-Fleck auf der Startlinie und hydrierte Gesamtfettsäuren,
c) Gemisch der reinen Säuren zum Vergleich



Zusammensetzung der Fettsäuren eines Leinöls: Zur Anwendung der Methode auf ein natürliches Fett wurde *Leinöl* benutzt. 200 γ der in üblicher Weise isolierten und in Toluol gelösten Gesamtfettsäuren wurden in der Startlinie auf 2 Palladium-Flecke gebracht, dazwischen zum Vergleich ein Gemisch der reinen Säuren. Nun führte man die Hydrierung auf dem Papier in der beschriebenen Weise durch und analysierte die Gesamtfettsäuren gleichzeitig maßanalytisch und UV-spektrographisch nach Isomerisierung. Es ergab sich folgende prozentuale Zusammensetzung.

	Ölsäure	Linolensäure	Linolensäure	Palmitinsäure	Stearinsäure
Hydrier-Differenz-Methode (Pd auf Papier)	21.8	12.7	52.4	8.2	5.0
enometrisch-spektrographisch	20.9	13.0	53.6		12.5

Das Ergebnis ist für eine fettanalytische Trennung ausreichend genau.

Zusammensetzung eines Fischöles: Bei einem weiteren Versuch kam das Gemisch der hochungesättigten Fettsäuren eines *Fischöles* (JZ 326), durch Fraktionierung aus den Gesamtfettsäuren präparativ abgetrennt, zur Anwendung. Einen Teil hydrierte man mit Hilfe eines Palladium/Bariumsulfat-Katalysators in Butylpropionat und chromatographierte das erhaltene Säuregemisch, einen zweiten Teil parallel dazu nach Hydrierung auf dem Palladium-Fleck. Die quantitative Auswertung ergab:

	Palmitinsäure	Stearinsäure	Arachinsäure	Behensäure
Hydrierung vor der pc-Analyse	4.8	16.2	36.8	42.2
Hydrierung auf dem Papier	5.0	16.0	36.4	42.6

Die katalytische Hydrierung auf dem Papier mit nachfolgender papierchromatographischer Analyse wurde an weiteren Verbindungen durchgeführt.

⁷⁾ Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel **58**, 498 [1956].

Sorbinsäure: Auf Palladium-Papier (SCHLEICHER & SCHÜLL 2040a) wurde eine 1-proz. Lösung von *Ammoniumsorbina*t aufgetragen und 15 Min. hydriert. Als Vergleichssubstanz diente Ammoniumcapronat, als mobile Phase 100 ccm 95-proz. Äthanol + 1 ccm konz. Ammoniak. Nach 8 Stdn. Entwicklungszeit wurde nach E. P. KENNEDY und H. A. BARKER⁸⁾ mit einer Lösung von 50 mg Bromphenolblau und 200 mg Citronensäure in 100 ccm Wasser besprüht, wobei sich blaue Flecken auf hellgelbem Grund bildeten. Die Sorbinsäure war zu *Capronsäure* reduziert worden.

Maleinsäure: Auf Palladium-Papier wie vorstehend wurde eine 2-proz. Lösung von *Ammoniummaleinat* auf den Palladium-Fleck aufgetragen; als Vergleichssubstanz diente Ammoniumsuccinat. Nach 30 min. Reduktion in *Wasserstoff*-Atmosphäre wurde 8 Stdn. mit *n* Äthanol. NH₃ (78-proz. Äthanol) entwickelt und nach A. SEHER⁹⁾ mit Ninhydrin angefärbt: violette Flecke auf hellem Grund. *Maleinsäure* wurde zu *Bernsteinsäure* reduziert.

Nitrobenzol: Eine 1-proz. Lösung von Nitrobenzol in Äthanol. Salzsäure (95 ccm Äthanol + 5 ccm konz. Salzsäure) wurde auf den Palladium-Fleck aufgetragen und 15 Min. hydriert; zum Vergleich diente eine 1-proz. Lösung von Anilin-hydrochlorid in Äthanol, als mobile Phase Methanol/Amylalkohol/Benzol/12 *n* HCl (35:17.5:35:12.5). Nach 8 Stdn. Entwicklungszeit erfolgte der Nachweis des gebildeten *Anilins* nach B. EKMAN¹⁰⁾ mit einer 0.2-proz. Lösung von Natriumnitrit in 0.1 *n* HCl und einer 0.2-proz. Lösung von Äthyl- α -naphthylamin in Äthanol: roter Fleck bei der hydrierten Substanz und der Vergleichssubstanz in gleicher Höhe.

m-Dinitro-benzol: Auf Palladium-Papier wurde eine 2-proz. Äthanol. Lösung von *m*-Dinitro-benzol und zum Vergleich daneben eine Äthanol. Lösung von *m*-Phenylendiamin aufgetragen. Nach 15 Min. Hydrierzeit diente als mobile Phase Methanol/Amylalkohol/Benzol 12 *n* HCl (35:17.5:35:12.5). Nach 6stdg. Entwicklung wurde mit einer 0.2-proz. Lösung von Natriumnitrit in 0.1 *n* HCl besprüht. Die hydrierte Lösung zeigte sich als brauner Fleck in Übereinstimmung mit dem mitgelaufenen *m*-Phenylendiamin.

Benzonitril: Eine 0.5-proz. Lösung von Benzonitril in Äthanol/konz. Salzsäure (19:1) wurde auf den Palladium-Fleck, daneben als Vergleichssubstanz eine 0.5-proz. Lösung von Benzylamin-hydrochlorid in Äthanol aufgetragen und 30 Min. hydriert. Als mobile Phase diente *n*-Butanol/Eisessig/Wasser (40:10:50). Nach 6stdg. Entwickeln und Trocknen bei Raumtemperatur wurde nach J. M. BREMNER und R. H. KENTEN¹¹⁾ durch Besprühen des Chromatogramms mit einer 1-proz. Lösung von Ninhydrin in Chloroform und Erwärmen auf 110° (2 Min.) entwickelt: violette Flecke auf weißem Grund. Benzonitril wurde zu *Benzylamin* reduziert.

Indigokarmin: Eine 5-proz. wäßrige Lösung von Indigokarmin wurde auf den Palladium-Fleck und daneben auf eine palladiumfreie Stelle des Papiers aufgetragen und 30 Min. hydriert. Als mobile Phase diente Methanol/Amylalkohol/Benzol/Wasser (40:20:20:20). Nach 6stdg. Entwickeln und Trocknen bei Raumtemperatur erschien die hydrierte Substanz als gelber Fleck, während das nicht hydrierte Indigokarmin unverändert blieb und einen anderen *R_F*-Wert aufwies.

Daß die Methode auch in der *anorganischen* Analyse anwendbar sein kann, zeigt nachstehendes Beispiel:

Kaliumjodat: Eine 1-proz. wäßr. Lösung von Kaliumjodat wurde auf den Palladium-Fleck, daneben zum Vergleich eine 1-proz. wäßr. Lösung von Kaliumjodid aufgetragen und

⁸⁾ Analytic. Chem. **23**, 1033 [1951].

⁹⁾ Fette, Seifen einschl. Anstrichmittel **58**, 401 [1956].

¹⁰⁾ Acta chem. scand. **2**, 383 [1948].

¹¹⁾ Biochem. J. **49**, 651 [1951].

