

KOBALTCHLORID ZUM NACHWEIS PHOSPHORORGANISCHER ESTER
AUF PAPIER- UND INSBESONDERE DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAMMEN

R. DONNER UND KH. LOHS

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Forschungsgemeinschaft, Institut für Verfahrenstechnik in der organischen Chemie, Leipzig (Deutsche Demokratische Republik)*

(Eingegangen den 29. Mai 1964)

Die Notwendigkeit der Identifizierung verschiedenster phosphororganischer Verbindungen auf pflanzlichen Produkten, in forensischem Material, in chemisch-technischen Erzeugnissen sowie in Abwässern und sonstigen industriellen Emissionen lässt es wünschenswert erscheinen, dass für die tägliche Laborpraxis einfache, allgemein übliche Nachweismittel und -methoden ohne apparativen und personellen Aufwand verwendet werden können. Die Papierchromatographie und die Dünnschichtchromatographie bieten hierfür günstige Voraussetzungen.

Während sich die Trennung und der Nachweis schwefelhaltiger phosphororganischer Verbindungen auf Papier- und Dünnschichtchromatogrammen recht befriedigend gestalten lässt, führten die Bemühungen um den Nachweis *schwefelfreier* phosphororganischer Verbindungen, insbesondere der tertiären Ester, bislang zu keinem befriedigendem Ergebnis. Sämtliche der vorgeschlagenen Reagenzien und Verfahren bedingten eine aufwendige, meist mehrstufige Prozedur mit oftmals vieldeutiger Aussage. Hier sei nur soviel erwähnt, dass zahlreiche Autoren sich auf das von HANES UND ISHERWOOD zurückgehende Verfahren¹ der Überführung phosphororganischer Ester in Ammoniumphosphormolybdat und dessen Reduktion zum Molybdänblau stützten und es vor allem hinsichtlich der Art und Mittel des Reduktionsvorganges variierten.

Daneben sind insbesondere für saure Phosphorsäureester folgende Nachweise als geeignet empfohlen worden: das Besprühen mit Fe(III)-salz-Lösungen und nachfolgender Anfärbung mit Sulfosalicylsäure², Rhodanidlösung³ oder 2-*o*-Hydroxyphenyl-benzoxazol⁴, ferner das Besprühen mit Bleiacetat- und nachfolgend Sulfidlösung⁵ oder mit alkoholischer Silbernitratlösung⁶.

Da die dünnschichtchromatographische Technik die Anwendung aggressiver Sprühmittel erlaubt, benutzte BRAUN zur Identifizierung phosphororganischer Weichmacher Antimonpentachlorid⁷ und zum Nachweis von Triarylphosphaten wurden Bichromat-Schwefelsäure und Kaliumpermanganat-Schwefelsäure-Mischungen empfohlen⁸.

Während die sofortige und direkte Anfärbung der Trialkylphosphate auf Papierchromatogrammen bisher nicht gelang, konnte ein dünnschichtchromatographischer Nachweis dieser Trialkylphosphate von KLEMENT UND WILD⁹ durch Besprühen mit einer Lösung von Ammonmolybdat und Perchlorsäure, anschließendes Trocknen bei 100° und Reduzieren im U.V.-Licht (bei mehrmaliger Wiederholung dieser Prozedur) erreicht werden.

* Direktor: Prof. Dr. Dr. E. LEIBNITZ.

In einer kürzlich von uns veröffentlichten vorläufigen Mitteilung haben wir über eine neue, einfache Nachweismethode für schwefelfreie phosphororganische Ester berichtet¹⁰. Durch Ausnutzung der Komplexbildungstendenz zahlreicher phosphororganischer Verbindungen konnte ein Nachweis auf Papier- und Dünnschichtchromatogrammen ermöglicht werden, der nur das Besprühen dieser Chromatogramme mit acetonischer Kobaltchloridlösung notwendig macht. Nachfolgend möchten wir über unsere Versuchsergebnisse ausführlicher berichten und hierbei einige Vergleiche mit anderen Sprühmitteln anstellen sowie auf die Abhängigkeit der Nachweispfindlichkeit vom Adsorbens und auf geeignete Fließmittelgemische hinweisen*. Unsere Untersuchungen über die Papier- und Dünnschichtchromatographie phosphororganischer Verbindungen werden fortgesetzt.

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Vergleich verschiedener Sprühmittel

Zunächst interessierten wir uns für das schon erwähnte Sprühmittel von KLEMENT UND WILD. Mit diesem Sprühmittel erhält man bessere Resultate, wenn die Konzentration an Perchlorsäure von 4 % auf 10 % erhöht und gleichzeitig die Trockentemperatur auf 150° gesteigert wird. Gute Ergebnisse erhält man auch, wenn man das Sprühmittel vorher im Verhältnis 1:1 mit dem von PETSCHIK UND STEGER¹¹ beschriebenen Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch mischt und nach dem Besprühen bei 170° trocknet.

Unsere Versuche zeigten, dass Eisen(III)-salze mit Trialkylphosphaten bei Mengen oberhalb 1 mg gut erkennbare hellbraune Flecken geben. Eine wesentliche Steigerung der Empfindlichkeit durch nachträgliches Besprühen der Dünnschichtplatte mit einer Rhodanid- oder Salicylsäurelösung war jedoch nicht zu beobachten.

Wir dehnten unsere Versuche auch auf andere Metallsalze aus und erzielten so z.B. mit methanolischer Chrom(III)-chloridlösung graugrüne Flecke, die jedoch noch schwächer ausgeprägt waren als die von Eisen(III)-salzlösungen; hellbraune Flecke erhielten wir beim Besprühen der Platten mit einer 1%igen acetonischen Kupferchloridlösung.

Die mit Abstand günstigsten Resultate sind jedoch beim Besprühen mit einer 1%igen acetonischen Lösung von Kobaltchlorid (wasserfrei) zu erzielen. Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels zeigen sich blaue Flecke, die bereits in der Kälte (bei kleinen Mengen phosphororganischer Ester nach Erwärmen auf 40–50°) innerhalb von 1–2 Min. sichtbar werden. Wasserhaltige Kobaltchloridlösungen erfordern ein nachträgliches Trocknen der Dünnschichtplatte im Trockenschrank; allerdings sind die hierbei nach dem Abkühlen sich abzeichnenden Farbflecke diffus bzw. unscharf gezeichnet.

Mit dem angegebenen Kobaltreagenz können schwefelfreie Phosphorsäureester, Phosphinoxide und Phosphorsäureesterhalogenide als blaue Flecken nachgewiesen werden. Phosphine und Phosphite geben blaue bis blaugrüne Flecke. Die sauren

* Nach Abschluss der hier veröffentlichten Arbeiten wurden uns Versuche von Herrn Dr. H. ACKERMANN (Institut für Ernährungsforschung der DAW, Potsdam-Rehbrücke) bekannt, die dieser zur Identifizierung phosphororganischer Ester mit acetonischer KMnO_4 -Lösung vorgenommen hat (demnächst in dieser Zeitschrift). Für Trialkylphosphate ist diese Methode nicht geeignet, sie stellt aber eine wertvolle Ergänzung für die Analytik zahlreicher anderer Phosphorsäureester dar.

organischen Phosphate und Phosphite treten nach dem Erwärmen der Dünnschichtplatte auf 60–100° als weisse Flecken auf hellblauem Grund in Erscheinung.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass das von MÜHLMANN UND TIETZ¹² für Thiophosphorsäureester angegebene Sprühmittel Kaliumhexajodplatinat mit Trialkylphosphaten nur schwach reagiert, dafür aber zum Nachweis der Triarylphosphate besser geeignet ist als Kobaltchlorid, welches in diesem Falle nur blassblaue Flecke bildet.

2. Abhängigkeit der Nachweisgrenze vom Adsorbens

Wir fanden, dass die Empfindlichkeit des Nachweises mit Kobaltchlorid als Sprühmittel nicht unwesentlich vom Adsorbens abhängt (Tabelle I).

TABELLE I

NACHWEISGRENZE (IN μg) IN ABHÄNGIGKEIT VOM VERWENDETEN ADSORBENS

Substanz	Adsorbens*		
	I	II	III
Triäthylphosphat	100	100	50
Tributylphosphat	200	250	80
Triphenylphosphat	250	250	100
Triäthylphosphit	25	10	10
Triamylphosphit	100	100	100
Tributylphosphin	50	25	10
Tributylphosphinoxid	25	25	50
Diisopropylphosphat	10	8	10

* I: Kieselgel D, Charge 30701, VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau.

II: Kieselgel G, Fa. Merck AG.

III: Aluminiumoxid G, VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau.

Hierbei wurden verwendet: Kieselgel D, Charge 30701, vom VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau (Adsorbens I), Kieselgel G der Fa. Merck AG (Adsorbens II) sowie Aluminiumoxid G vom VEB Chemiewerk Greiz-Dörlau (Adsorbens III).

Die Nachweisempfindlichkeit auf Papierchromatogrammen entspricht der von Kieselgel D (Adsorbens I).

3. Zur Auswahl der geeignetsten Laufmittel

Das von KLEMENT UND WILD⁹ ermittelte Laufmittel Hexan–Benzol–Methanol (2:1:1) liefert im allgemeinen günstige R_F -Werte, jedoch zeigen sich bei den homologen Reihen keine grossen Unterschiede. Unsere Versuche ergaben, dass das Gemisch Hexan–Methanol–Äther (6:1:1) günstige Trennungen zulässt. Beide Laufmittel ergänzen sich in ihren Trenneigenschaften und sie werden nachfolgend als Laufmittel 1 und 2 bezeichnet.

Die für die einzelnen Substanzen mit Laufmittel 1 und 2 gefundenen R_F -Werte sind in Tabelle II (Kieselgel D, Greiz-Dörlau) und in Tabelle III (Kieselgel G, Merck) zusammengestellt. Die jeweils aufgetragene Substanzmenge betrug angenähert 2.5 μl . Feste Substanzen sind als 10%ige Lösungen in Methylenchlorid verwendet worden.

TABELLE II

 R_F WERTE VON PHOSPHORORGANISCHER VERBINDUNGEN (MIT KIESELGEL D, GREIZ-DÖLAU)

Substanz	Laufmittel	
	1	2
Trimethylphosphat	0.33	0.05
Triäthylphosphat	0.48	0.21
Triisopropylphosphat	0.52	0.39
Triisobutylphosphat	0.58	0.50
Tributylphosphat	0.61	0.53
Trichloräthylphosphat	0.33	Start
Dichlorvinylphosphorsäuredimethylester	0.48	0.21
Diisopropylfluorphosphat	0.53	0.51
Diisopropylphosphat	0.23	0.04
Methylphosphonsäurediisopropylester	0.42	0.31
Benzylphosphorsäurediäthylester	0.39	0.12
Triphenylphosphat	0.48	0.34
Trikresylphosphat	0.44	0.36
Phenylphosphorsäuredichlorid	0.13	Start
Diäthylaminophosphorsäuredichlorid	0.57	0.50
Triäthylphosphit	0.64	0.67
Triisopropylphosphit	0.71	0.71
Triisobutylphosphit	0.71	0.76
Tributylphosphit	0.72	0.77
Triisoamylphosphit	0.68	0.68
Triamylphosphit	0.68	0.70
Diäthylphosphit	0.33	Start
Dipropylphosphit	0.33	0.04
Dibutylphosphit	0.33	0.12
Tributylphosphin	0.72	0.74
Triphenylphosphin	0.71	0.71
Äthyl-Dipterex	0.29	0.06
Propyl-Dipterex	0.34	0.19
Butyl-Dipterex	0.46	0.31
Tributylphosphinoxid	0.46	0.25

TABELLE III

 R_F -WERTE VON PHOSPHORORGANISCHER VERBINDUNGEN (MIT KIESELGEL G, MERCK)

Substanz	Laufmittel	
	1	2
Trimethylphosphat	—	0.03
Triäthylphosphat	0.45	0.17
Triisopropylphosphat	—	0.35
Tributylphosphat	—	0.39
Methylphosphonsäurediisopropylester	—	0.30
Diisopropylphosphat	0.32	0.01
Benzylphosphorsäurediäthylester	—	0.16
Triphenylphosphat	—	0.23
Triäthylphosphit	—	0.65
Triisobutylphosphit	—	0.68
Di-n-propylphosphit	—	0.03
Tributylphosphin	—	0.61
Triphenylphosphin	0.78	—

Mit den angeführten Laufmitteln gelang es z.B., saure Dialkylphosphate neben Dialkylhalogenphosphaten nachzuweisen. Auf die gleiche Weise ist auch die Trennung homologer phosphororganischer Verbindungen möglich, wie dies aus der Fig. 1 am Beispiel der Trialkylphosphate gut ersichtlich ist.

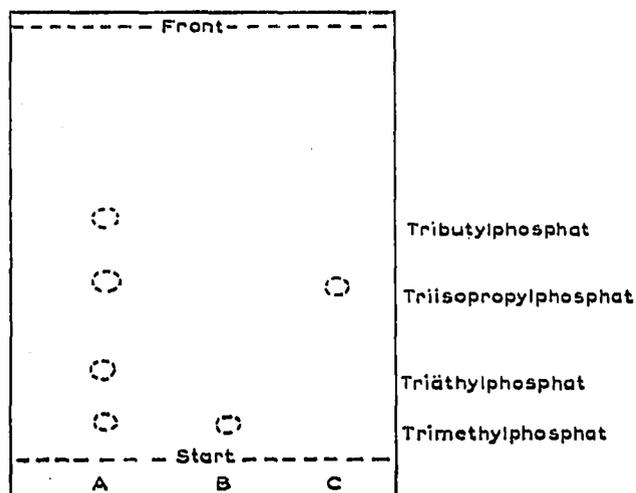


Fig. 1. Trennung von Trialkylphosphaten, aufgetragene Menge 0.005 ml. (A) Jeweils 10% Trimethyl-, Triäthyl-, Triisopropyl- und Tributylphosphat in Methylenchlorid gelöst. (B) 10%ige Lösung von Trimethylphosphat in Methylenchlorid. (C) 10%ige Lösung von Triisopropylphosphat in Methylenchlorid.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird über die Verwendung acetonischer Kobaltchloridlösung zur Identifizierung phosphororganischer Verbindungen auf Papier- und Dünnschichtchromatogrammen berichtet. Auf Vergleiche mit anderen Sprühmitteln, auf die Abhängigkeit der Nachweisgrenze vom Adsorbens und auf geeignete Laufmittel wird näher eingegangen. Die Verwendung der acetonischen Kobaltchloridlösung erlaubt erstmals auch die schnelle und sichere Identifizierung der bisher schwer nachweisbaren Trialkylphosphate.

SUMMARY

A solution of cobalt chloride in acetone is used for the identification of organic phosphorus compounds, both on paper and thin-layer chromatograms. This reagent is compared with other reagents and the dependence of the limits of detection on the adsorbent, as well as the choice of suitable eluents are discussed in detail. The use of this solution also enables a quick and reliable identification of trialkyl phosphates, which have hitherto been difficult to identify.

LITERATUR

- 1 C. S. HANES UND F. A. ISHERWOOD, *Nature*, 164 (1949) 1107.
- 2 H. E. WADE UND D. M. MORGAN, *Nature*, 171 (1953) 529.
- 3 H. A. MOULE UND S. GREENFIELD, *J. Chromatog.*, 11 (1963) 77.
- 4 H. T. GORDON, L. N. WERUM UND W. W. THORNBURG, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 272.

- 5 G. M. KOSOLAPOFF, *J. Chem. Soc.*, (1957) 3428.
- 6 TH. WEIL, *Helv. Chim. Acta*, 38 (1955) 1274.
- 7 D. BRAUN, *Kunststoffe*, 52 (1962) 2.
- 8 H. ERTEL UND L. HORNER, *J. Chromatog.*, 7 (1962) 268.
- 9 R. KLEMENT UND A. WILD, *Z. Anal. Chem.*, 195 (1963) 180.
- 10 R. DONNER UND KH. LOHS, *Monatsber. Deut. Akad. Wiss. Berlin*, 6 (1964) 398.
- 11 H. PETSCHIK UND E. STEGER, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 307.
- 12 R. MÜHLMANN UND H. TIETZ, *Höfchen Briefe*, 2 (1956) 116.

J. Chromatog., 17 (1965) 349-354