

CHROM. 16,032

TRENNUNG STELLUNGSISOMERER AROMATISCHER SULFONATE DURCH HOCHSPANNUNGSELEKTROPHORESE IN DIMETHYLFORMAMID

E. BLASIUS* und E. MERNKE

Fachrichtung Anorganische Analytik und Radiochemie der Universität des Saarlandes, D-6600 Saarbrücken (B.R.D.)

(Eingegangen am 2. Juni 1983)

SUMMARY

Separations of position-isomeric aromatic sulphonates by high-voltage electrophoresis in dimethylformamide

Electrophoretic separations of position-isomeric aromatic sulphonates which are not possible in aqueous buffers can be achieved using dimethylformamide as buffer solvent. Examples are the separations of naphthol sulphonates, of food colours Orange 1 and Orange 2, and of azo dyes derived from the naphthol sulphonates. An additional improvement of the separations is possible by using a temperature gradient along the migration path.

EINLEITUNG

Die Einführung der Sulfonsäuregruppe dient bei vielen organischen Verbindungen der Erhöhung der Wasserlöslichkeit. Dieser Effekt beruht auf der ausgeprägten Hydrophilie dieser Gruppe und der damit verbundenen guten Hydratation. Da die weitgehende Hydratation jedoch strukturelle Unterschiede zwischen chemisch ähnlichen Verbindungen überdeckt, sind in solchen Fällen in wässrigen Grundelektrolyten oft keine guten Trennungen durch Elektrophorese zu erreichen. In diesem Fall sind Trennungen in nichtwässrigen Systemen vorteilhaft¹. In der vorliegenden Arbeit dienen als Beispiele die Trennungen von Naphtholdisulfonaten (Fig. 1), der Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und Orange 2 (Fig. 2) sowie der aus den genannten Naphtholdisulfonaten durch Azokupplung mit 1-Naphthylamin hergestellten Azofarbstoffe (Fig. 3) in Dimethylformamid als Lösungsmittel.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und Orange 2 stammen von der Fachrichtung Ernährungs- und Haushaltswissenschaften, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, die Naphtholdisulfonate von der Firma Fluka, Neu-Ulm. Die daraus

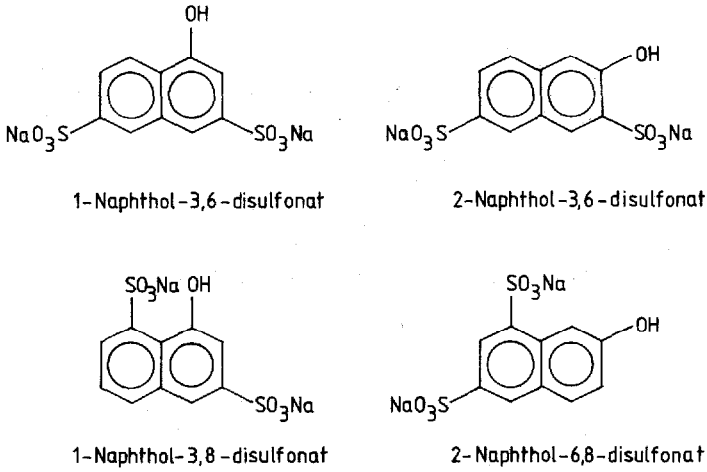


Fig. 1. Strukturen der verwendeten Naphtholdisulfonate.

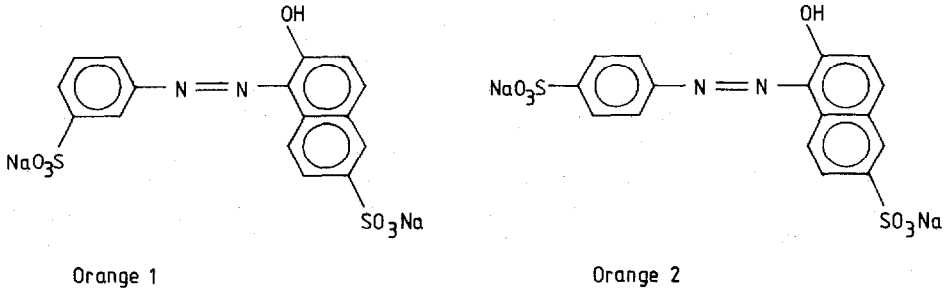


Fig. 2. Strukturen der Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und Orange 2.

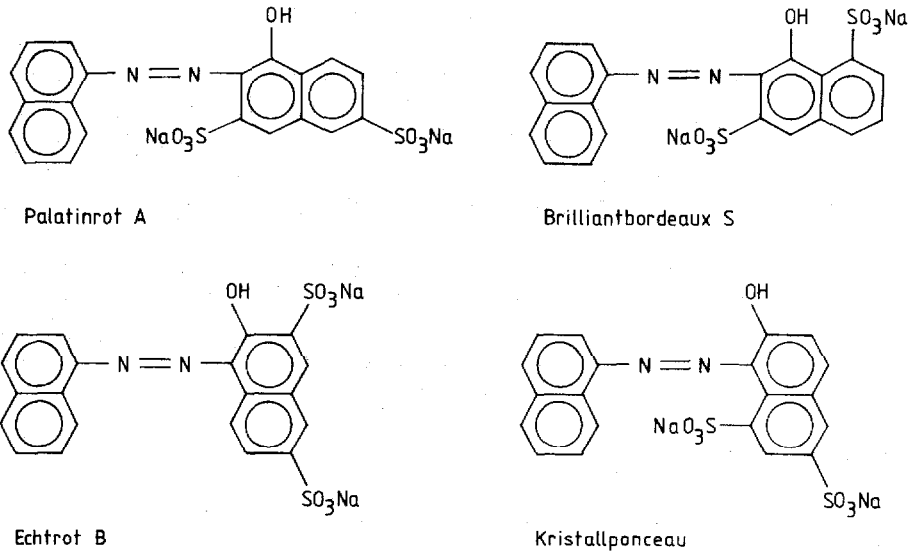


Fig. 3. Strukturen der aus den Naphtholdisulfonaten aus Fig. 1 hergestellten Azofarbstoffe.

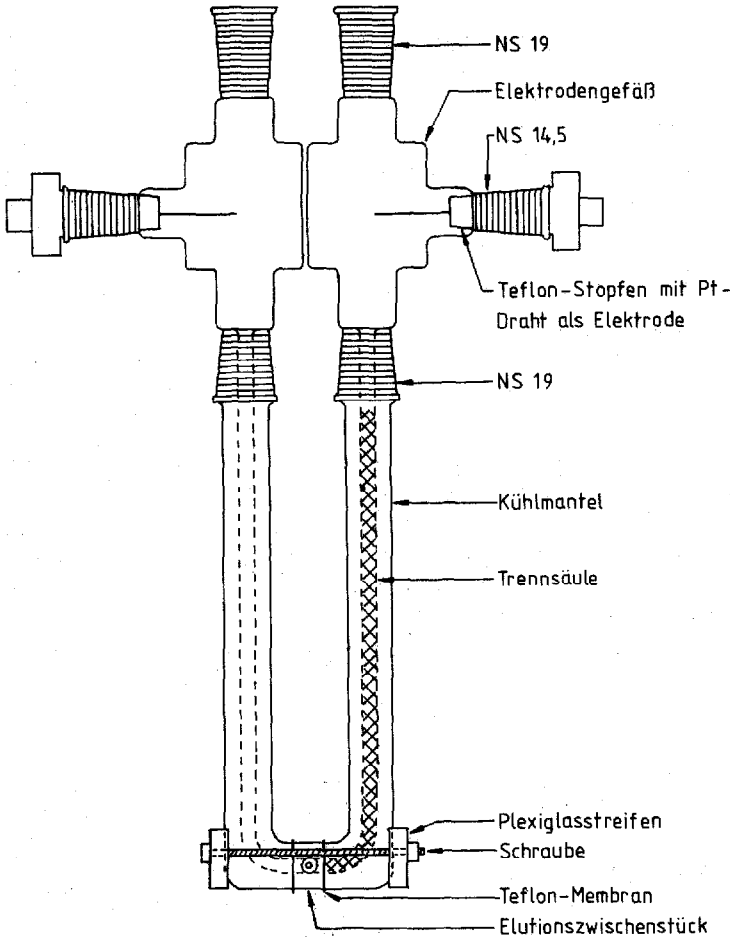


Fig. 4. Apparatur zur Säulenelektrophorese.

abgeleiteten Azofarbstoffe werden nach einer allgemeinen Vorschrift für die Diazotierung und Azokupplung² erhalten.

Die für die Säulenelektrophorese verwendete Apparatur gibt Fig. 4, die Säulenparameter Tabelle I, die Trennbedingungen Tabelle II. Der prinzipielle Aufbau

TABELLE I

PARAMETER DER ELEKTROPHORESESÄULE

Länge der Trennsäule	15 cm
Innendurchmesser der Trennsäule	0.33 cm
Volumen der Trennsäule	1.3 cm ³
Durchmesser des Kühlmantels	1.5 cm
Totvolumen des Elutionszwischenstücks	100 mm ³
Durchmesser des Elutionszwischenstücks	1.5 cm
Länge des Elutionszwischenstücks	1.0 cm
Elektrodengefäßvolumen	ca. 50 cm ³

TABELLE II
TRENNBEDINGUNGEN FÜR DIE SÄULENELEKTROPHORESE

Füllhöhe der Trennsäule	15-17 cm
Spannung	1000 V
Trenntemperatur	0°C
Grundelektrolyt	LiCl ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid bzw. Wasser
Stromstärke	20-25 mA
Träger	Cellulose
Probenvolumen	Je 25 μl gesättigter ethanolischer Lösung
Auswertung	Durchflussphotometrie bei 335 nm

der Apparatur zur Säulenelektrophorese ist schon beschrieben¹. Die zwischenzeitlich durchgeführten Veränderungen in der Form der Trennsäulen führen dazu, dass das Elutionszwischenstück im tiefsten Punkt der Apparatur liegt und sich hier keine Luftblasen mehr festsetzen können. Insgesamt ergibt sich mit der neuen Anordnung ein wesentlich einfacheres Zusammenbauen und Füllen der Apparatur sowie eine vielseitigere Verwendung der Einzelteile.

Die Bedingungen für die Streifenelektrophorese sind Tabelle III zu entnehmen.

ERGEBNISSE

Einen Vergleich der Elutionsdiagramme bei der Säulenelektrophorese der Naphtholdisulfonate zeigt Fig. 5. Während im wässrigen Grundelektrolyten keine Trennung beobachtet wird, gelingt in Dimethylformamid die Auftrennung in drei Banden. Streifenelektrophoretische Versuche im benutzten Grundelektrolyten zeigen, dass von den beiden Disulfonaten, die säulenelektrophoretisch nicht getrennt werden, 1-Naphthol-3,8-disulfonat eine geringfügig höhere Beweglichkeit besitzt.

Die Trennung der beiden Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und 2 gelingt im Grundelektrolyten ZnCl_2 -Dimethylformamid (Fig. 6). In den Grundelektrolyten

TABELLE III
TRENNBEDINGUNGEN FÜR DIE STREIFENELEKTROPHORESE

Spannung	2000 V
Feldstärke	50 V/cm
Trenntemperatur	0°C bzw. Gradient von 2°C/cm im Bereich von -10 bis +20°C
Trennzeit	45 min
Grundelektrolyte	Jeweils bei den einzelnen Trennungen angegeben
Stromstärke	5-6 mA bei LiCl in Dimethylformamid 30-35 mA bei ZnCl_2 in Wasser 2-3 mA bei ZnCl_2 in Dimethylformamid jeweils pro 2-cm-Streifen
Träger	Glasfaserpapier Nr. 6, Schleicher & Schüll
Probenvolumen	Je 5 μl methanolischer Lösung ($c = 0.01 \text{ mol/l}$)
Auswertung	Visuell

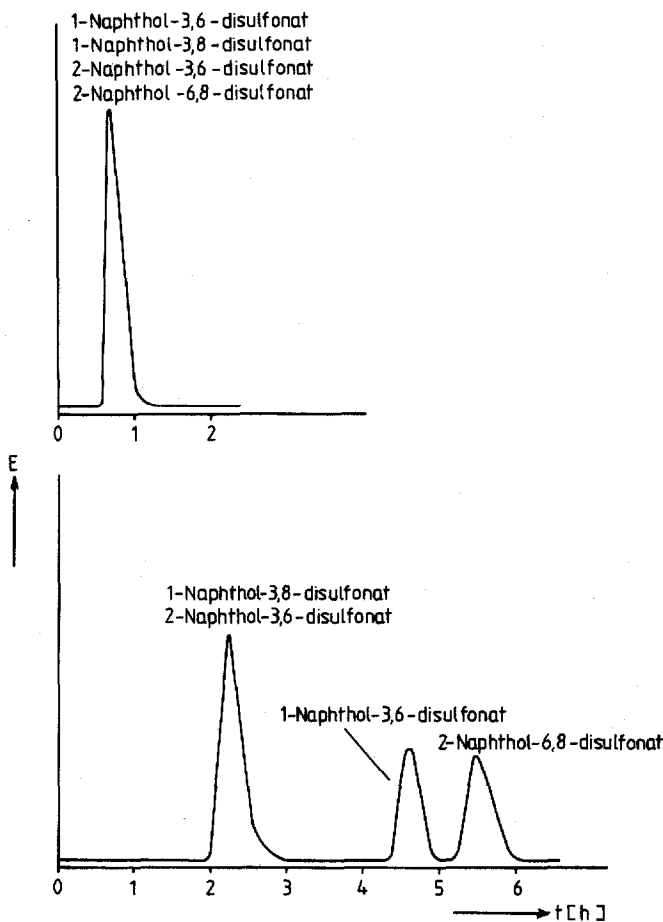


Fig. 5. Elutionsdiagramme für die Säulenelektrophorese von Naphtholdisulfonaten, Grundelektrolyt oben: LiCl ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Wasser, unten: LiCl ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid.

LiCl-Dimethylformamid und ZnCl_2 -Wasser findet keine Auftrennung statt. Durch Anwendung eines Temperaturgradienten von 2°C/cm kann die Trenngüte um etwa 65% gesteigert werden (vgl. Fig. 6d und g).

Die entsprechenden Trennungen der Azofarbstoffe aus Fig. 3 zeigt Fig. 7. Sie gelingen in Wasser nur teilweise, wobei sich jeweils zwei Zonen überlappen und die Zonen überdies sehr verbreitert und diffus sind (Fig. 7a). Demgegenüber findet im Grundelektrolyten LiCl-Dimethylformamid eine vollständige Auftrennung statt (Fig. 7b), die durch einen geringen Zusatz an ZnCl_2 noch verbessert wird (Fig. 7c). Eine zu hohe ZnCl_2 -Konzentration bewirkt jedoch eine Herabsetzung der Wanderungsgeschwindigkeit und das Zusammenfallen der Zonen von Brilliantbordeaux S, Echtrot B und Kristallponceau (Fig. 7d).

Eine zusätzliche Steigerung der Trenngüte lässt sich, wie bei Orange 1 und 2, durch Anwendung eines Temperaturgradienten erzielen (Fig. 7e).

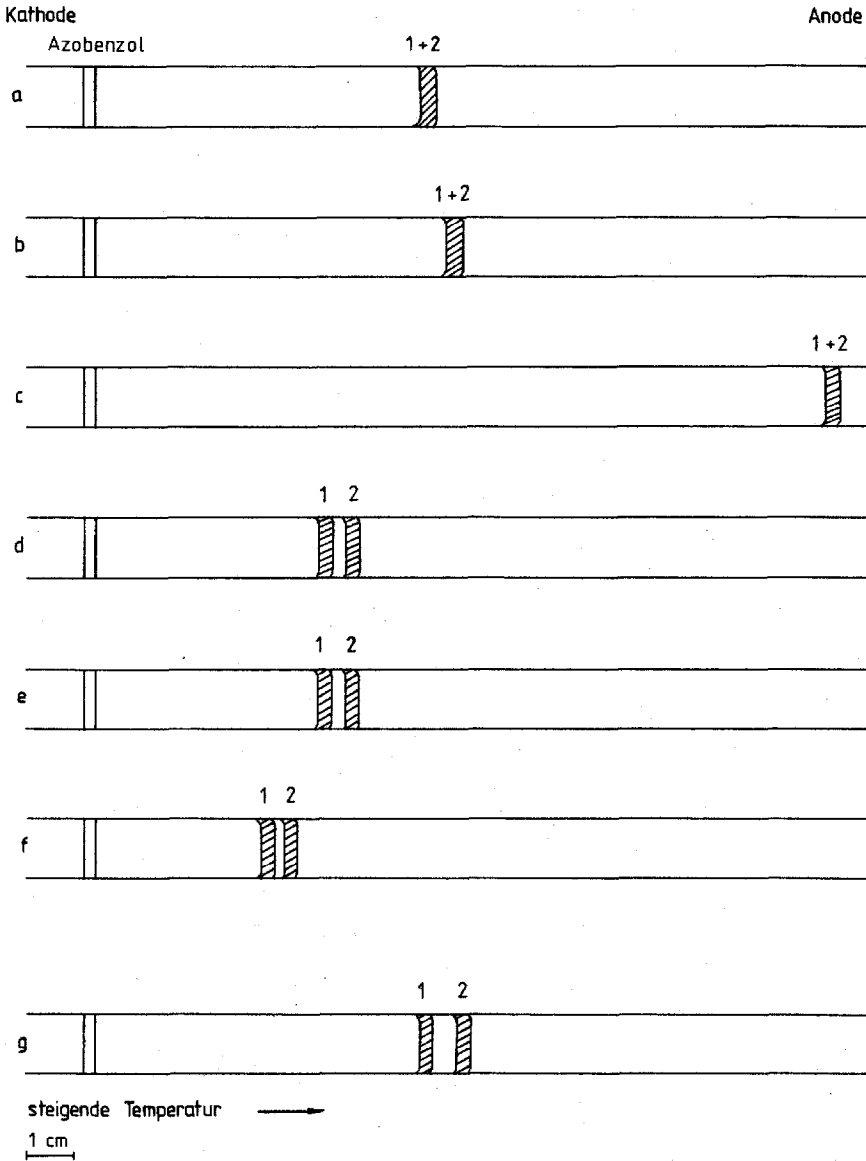


Fig. 6. Streifenelektrophoretische Trennung der Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und Orange 2. a-f, konstante Trenntemperatur 0°C ; g, Temperaturgradient $2^{\circ}\text{C}/\text{cm}$. Grundelektrolyt: a, LiCl ($c = 0.2 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; b, LiCl ($c = 0.2 \text{ mol/l}$) und ZnCl_2 ($c = 0.05 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; c, ZnCl_2 ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Wasser; d, ZnCl_2 ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; e, ZnCl_2 ($c = 0.15 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; f, ZnCl_2 ($c = 0.2 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; g, ZnCl_2 ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid. 1 = Orange 1, 2 = Orange 2.

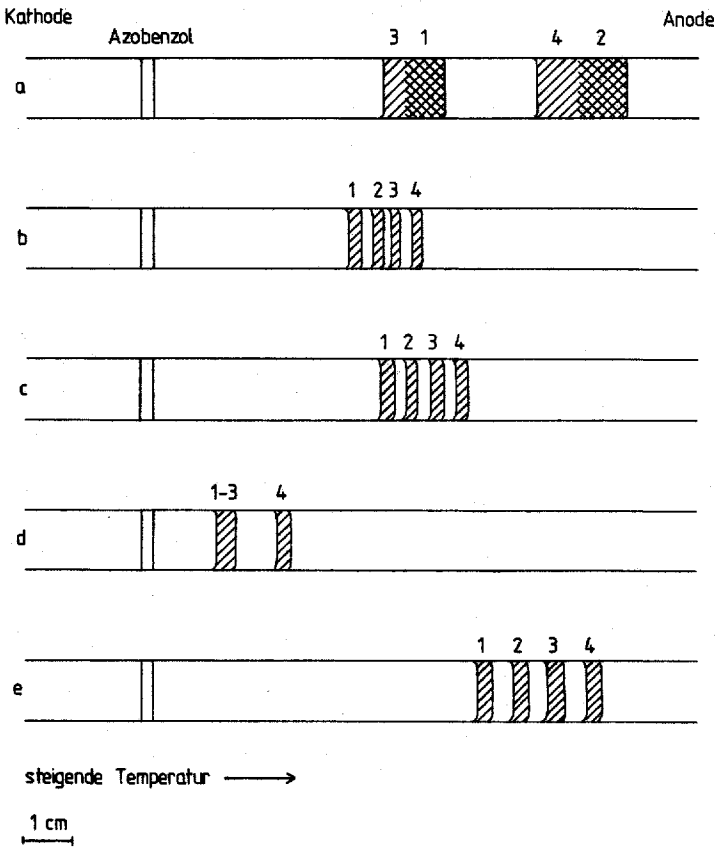


Fig. 7. Streifenelektrophoretische Trennung der aus den Naphtholdisulfonaten und 1-Naphthylamin hergestellten Azofarbstoffe. a-d, konstante Trenntemperatur 0°C; e, Temperaturgradient 2°C/cm. Grundelektrolyte: a, LiCl ($c = 0.2 \text{ mol/l}$) in Wasser; b, LiCl ($c = 0.2 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; c, LiCl ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) und ZnCl_2 ($c = 0.05 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; d, ZnCl_2 ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid; e, LiCl ($c = 0.1 \text{ mol/l}$) und ZnCl_2 ($c = 0.05 \text{ mol/l}$) in Dimethylformamid. 1 = Brilliantbordeaux S, 2 = Echtrot B, 3 = Kristallponceau, 4 = Palatinrot A.

DISKUSSION

Die erhaltenen Ergebnisse zur Trennung aromatischer Sulfonate, die jeweils eine Hydroxygruppe enthalten, sind unter folgenden Gesichtspunkten verständlich:

(a) Die Nachbarschaft einer negativ geladenen Sulfogruppe und einer Hydroxygruppe ist eine günstige Voraussetzung für eine Wasserstoffbrücke oder die Komplexierung eines Metallkations unter H^+ -Abspaltung. Bei Naphthalinderivaten sollte wegen der räumlichen Lage der Substituenten eine 1,8-Stellung von Sulfo- und Hydroxygruppe für die Komplexierung vorteilhafter sein als z.B. eine 2,3-Stellung.

(b) β -Hydroxy-Azoverbindungen bilden, vorallem mit mehrfach geladenen Kationen, Komplexe unter H^+ -Abspaltung der Hydroxygruppe.

(c) Eine Sulfogruppe in *ortho*- oder *para*-Stellung zu einer Hydroxygruppe bewirkt dort infolge ihres induktiven und mesomeren Effektes eine geringfügige Her-

absetzung der Elektronendichte und damit der Komplexbildungsfähigkeit des Hydroxy-Sauerstoffs.

(d) In Wasser werden die insbesondere unter (a) und (c) genannten Effekte durch die starke Hydratation überdeckt.

Nach (a) bilden Naphtholdisulfonate mit 1,8- bzw. 2,3-Stellung von Sulfo- und Hydroxygruppe im Grundelektrolyten LiCl-Dimethylformamid intramolekular eine H^+ - oder Li^+ -Brücke aus. Dadurch wird die Ladung der Sulfogruppe dezentralisiert. Dies bedeutet eine geringere Solvatation durch das Lösungsmittel und mithin eine höhere elektrophoretische Beweglichkeit gegenüber den Naphtholdisulfonaten, die keine H^+ - oder Li^+ -Brücke bilden können. Wie erwartet ist die Erhöhung der Beweglichkeit bei 1,8-Substitution gegenüber 2,3-Substitution geringfügig grösser. In Wasser bilden diese Naphtholdisulfonate aufgrund der starken Solvatation keine H^+ - oder Li^+ -Brücke mehr aus.

Die Trennung von Orange 1 und Orange 2 kann nach (b) und (c) erklärt werden. Die Stellung der Sulfogruppe in Orange 2 bewirkt eine Herabsetzung der Komplexbildung mit Zn^{2+} . Da der Zn^{2+} -Komplex eine geringere Ladung als der reine Farbstoff aufweist, wandert Orange 2, das den schwächeren Komplex bildet, schneller. In Wasser werden die geringen Unterschiede in der Komplexbildungsfähigkeit durch die starke Solvatation überdeckt.

Die übrigen untersuchten Azofarbstoffe bilden aufgrund der Azo- und Hydroxygruppe gleichfalls Komplexe mit Kationen. Bei einer zur Hydroxygruppe benachbarten Sulfogruppe ist nach (a) zusätzliche Komplexbildung möglich, wodurch sich die Ladung verringert. Brilliantbordeaux S und Echtröt B wandern deshalb langsamer als die beiden übrigen Farbstoffe. Darüberhinaus ist eine Beeinflussung des Trennverhaltens durch den induktiven und mesomeren Effekt der Sulfogruppe denkbar.

ZUSAMMENFASSUNG

Elektrophoretische Trennungen von stellungsisomeren aromatischen Sulfonaten, die in wässrigen Grundelektrolyten nicht möglich sind, gelingen in Dimethylformamid. Beispiele sind die Trennungen von Naphtholdisulfonaten, der Lebensmittelfarbstoffe Orange 1 und Orange 2, sowie von Azofarbstoffen, die aus Naphtholdisulfonaten hergestellt werden. Eine Verbesserung der Trennungen gelingt durch Verwendung eines Temperaturgradienten entlang der Trennstrecke.

DANK

Für finanzielle Unterstützung der Arbeit danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft, Bonn-Bad Godesberg.

LITERATUR

- 1 E. Blasius, C. Schreier und K. Ziegler, *Talanta*, 26 (1979) 641.
- 2 Autorenkollektiv, *Organikum*, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, 12. Aufl., 1973.
- 3 E. Blasius und G. Klemm, *J. Chromatogr.*, 135 (1977) 323.