

## Note

### Dünnschichtchromatographische Nachweismethoden für Dicarbonsäuren

COSTEL SÂRBU\*

*Institutul Politehnic Cluj-Napoca, Facultatea de mecanică, Cluj-Napoca (Rumänien)*

und

MIHAI HORN und CONSTANTIN MĂRUTOIU

*Institutul de Chimie Cluj-Napoca, Cluj-Napoca (Rumänien)*

(Eingegangen am 2. August 1983)

Unter den für Trennung und Nachweis von Dicarbonsäuren bekannten Methoden nimmt die Dünnschichtchromatographie (TLC) einen besonderen Platz ein.

Die wichtigsten Dicarbonsäuren deren Ester in Weichmacher<sup>1</sup>, Copolymeren<sup>2</sup> oder biologischem Material<sup>3,4</sup> sowie als freie Säuren in Weinen und Pflanzensäften<sup>5</sup> vorkommen konnten dünn-schichtchromatographisch aufgetrennt und identifiziert werden. Desgleichen wird die Lage der Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren durch TLC-Trennung und -Nachweis der durch die Oxydation mit Kaliumpermanganat resultierenden Dicarbonsäuren ermittelt<sup>6,7</sup>.

Bei Durchsicht der Literatur stellt man fest, dass die eigentliche TLC-Trennung der Dicarbonsäuren keineswegs ein schwieriges Problem darstellt. Als stationäre Phase kommt Kieselgel<sup>1-4,6,7</sup> oder Cellulose<sup>5</sup> in Frage; entwickelt wird sowohl mit säuren<sup>2,5-7</sup> als auch basischen<sup>1,4</sup> Fließmittelsystemen. Sichtbarmachung der getrennten Dicarbonsäuren erfolgt überwiegend mit pH-Farbindikatoren, am häufigsten mit Bromkresolgrün<sup>1-3,6-8</sup>. Seltener verwendet werden 2,6-Dichlorphenol-Indophenol<sup>4</sup>, Jodat-Jodid Gemisch<sup>9</sup>, Arabinose-Anilin Gemisch<sup>5</sup>, Ammonium-hexanitratocerat-(IV)<sup>10</sup> oder 4,4'-bis(Dimethylamino)diphenylcarbinol<sup>11</sup> und Acridin<sup>12</sup>.

Die auf pH-Farbindikatoren beruhenden Nachweismethoden zeichnen sich durch eine mässige Empfindlichkeit aus und erfordern eine besondere Behandlung der Platten vor dem Besprühen um die Flecke vom farbigen Plattenhintergrund erkennbar zu machen.

Zweck der vorliegenden Arbeit war es eine einfache und empfindliche Nachweismethode für dünn-schichtchromatographisch getrennte Dicarbonsäuren zu finden welche die Unzulänglichkeiten der bekannten Methoden umgeht.

Von der bekannten Tatsache ausgehend, dass Acridin und dessen Verbindungen ein pH-abhängiges Fluoreszenzspektrum aufweisen<sup>12</sup> prüften wir eine Reihe von Acridinderivate (Tabelle I) auf ihre Brauchbarkeit als Sprühreagenzien. Es konnte festgestellt werden, dass unter UV-Licht sowohl bei 254 nm als auch bei 366 nm ein deutlicher Farbunterschied zwischen der Fluoreszenz des Plattenhintergrundes und der Säureflecke zu erkennen ist. Dieser Farbunterschied ist unabhängig von der Natur der Dicarbonsäure, ändert sich jedoch im allgemeinen mit der Acridinverbindung (Tabelle II).

TABELLE I

## ALS SPRÜHREAGENZIIEN VERWENDETE ACRIDINVERBINDUNGEN

Fluoreszenz der Flecke und des Plattengrundes bei 254 bzw. 366 nm.

Nr.	Acridinverbindung	UV-Fluoreszenz			
		254 nm		366 nm	
		Hintergrund	Fleck	Hintergrund	Fleck
1	Acridin	hellblau	gelb-grün	hellblau	hellgelb
2	9-Phenylacridin	blau-grün	gelb	blau-grün	gelb
3	Acridinorange*	gelb-grün	rot-violett	gelb-grün	rot
4	Dibenz[ <i>a,j</i> ]acridin	tiefblau	hellblau	tiefblau	hellblau
5	9-Phenoxyacridin	tiefblau	hellblau	tiefblau	hellblau
6	9-( <i>p</i> -Methylphenoxy)acridin	tiefblau	hellblau	tiefblau	hellblau
7	9-( <i>m</i> -Methylphenoxy)acridin	tiefblau	hellblau	tiefblau	hellblau
8	9-( <i>p</i> -Aminophenoxy)acridin	tiefblau	hellblau	tiefblau	hellblau

\* Bis-3,6-Dimethylaminoacridin.

TABELLE II

 $hR_F$ -WERTE DER VERWENDETEN DICARBONSÄUREN FÜR DAS FLIESSMITTEL CHLOROFORM-METHANOL-AMMONIAK 25% (30:20:10) MIT UND OHNE ACRIDINVERBINDUNG

Dicarbonsäure	$hR_F$			
	Ohne Acridin- verbindung	Acridin	9-( <i>p</i> -Methyl- phenoxy)acridin	9-( <i>p</i> -Amino- phenoxy)acridin
Oxalsäure	12	8	4	3
Malonsäure	39	17	12	11
Bernsteinsäure	56	43	18	16
Glutarsäure	67	48	26	21
Adipinsäure	74	56	31	29
Sebacinsäure	88	85	58	54

## EXPERIMENTELLER TEIL

Kieselgel G Fertigplatten (20 × 20 cm) von 500  $\mu\text{m}$  Schichtdicke mit Stärke Agar-Agar als organisches Bindemittel kamen zur Anwendung (Hersteller Institut für Chemie, Cluj-Napoca). Die Platten waren luftgetrocknet. Es wurde aufsteigend in ungesättigter Normalkammer entwickelt; als Fließmittel wurde Chloroform-Methanol-Ammoniak 25% (30:20:10) verwendet. Alle Dicarbonsäuren wurden als 0.1% Aceton-Lösung aufgetragen (1  $\mu\text{l}$ ). Die Entwicklungszeit beträgt 75 min pro 10 cm Laufstrecke. Nach dem Entwickeln wurden die Platten 30 min einer Temperatur von 120°C ausgesetzt\* und anschliesslich mit einer 0.05% äthanolischen Lösung der

\* Diese Temperatur bewirkt keine thermische Zersetzung der Dicarbonsäuren auf der Platte.

jeweiligen Acridinverbindung besprüht. Sichtbarmachung erfolgt durch Betrachten der Platten im UV-Licht bei 254 nm bzw. 366 nm. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0.1  $\mu\text{g}$  pro Fleck für alle untersuchten Säuren und Sprühreagenzien. Tabelle I gibt die Ergebnisse der Sichtbarmachung wieder.

#### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Tabelle I zeigt, dass sich alle untersuchten Dicarbonsäuren mit den verwendeten Sprühreagenzien einwandfrei sowohl im langwelligen als auch im kurzwelligen UV-Licht nachweisen lassen. Wird Acridinorange (3 in Tabelle I) als Sprühreagenz verwendet so müssen die Platten unmittelbar nach dem Besprühen ausgewertet werden da durch das Trocknen eine beachtliche Fluoreszenzminderung der Flecke eintritt.

Manche Acridinverbindungen kann man mit Erfolg auch direkt in das Fließmittel einbringen (ca. 50 mg pro 60 ml Fließmittel); die Arbeitsweise ist die gleiche lediglich das Besprühen nach dem Entwickeln entfällt. Auf diese Weise erhält man einen besonders gleichmässig gefärbten Hintergrund, eine Tatsache die einer quantitativen Auswertung zugute kommt. Man beobachtet bei dieser Arbeitsweise eine Abhängigkeit der  $R_F$ -Werte von der dem Fließmittel zugefügten Acridinverbindung (Tabelle II). Die grössten  $hR_F$ -Werte sind im "reinen" Fließmittel beobachtet worden.

Lediglich Verbindungen 1, 6 und 8 aus Tabelle I beweisen ihre Brauchbarkeit bei dieser Technik; in allen anderen Fällen wandern die Dicarbonsäuren mit der Fließmittelfront.

#### LITERATUR

- 1 D. Braun und H. Geenen, *J. Chromatogr.*, 7 (1962) 56.
- 2 S. Mori und T. Takeuchi, *J. Chromatogr.*, 47 (1970) 224.
- 3 H. Rasmussen, *J. Chromatogr.*, 26 (1967) 512.
- 4 C. Passera, A. Pedrotti und G. Ferrari, *J. Chromatogr.*, 14 (1964) 289.
- 5 M. Bourzeix, J. Guitraud und F. Champagnol, *J. Chromatogr.*, 50 (1970) 83.
- 6 N. S. Rajagopal, P. K. Sarawathy, M. R. Subbaram und K. T. Achaya, *J. Chromatogr.*, 24 (1966) 217.
- 7 S. Miyazaki, Y. Suhara und T. Kobayashi, *J. Chromatogr.*, 39 (1969) 88.
- 8 S. A. Hansen, *J. Chromatogr.*, 124 (1976) 123.
- 9 L. Chafetz und M. H. Penner, *J. Chromatogr.*, 49 (1970) 340.
- 10 G. G. Rao, I. Subrahmanyam und B. M. Rao, *Talanta*, 19 (1972) 1083.
- 11 R. J. Burt, B. Ridge und H. N. Rydon, *J. Chromatogr.*, 118 (1976) 240.
- 12 B. L. van Duuren, *Chem. Rev.*, 63 (1963) 325; siehe auch *Handbook of Chromatography, Vol. II*, CRC Press, Cleveland, OH, 1972, S. 130.