

Beiträge zur Papierchromatographie organischer Substanzen. I.

Nitroverbindungen, Halogenverbindungen, Aldehyde
und Ketone

Von

V. Prey und A. Kabil

Aus dem Institut für organische Chemie der Technischen Hochschule Wien

(Eingelangt am 9. Juli 1956)

Die papierchromatographischen Methoden zur Analyse von Nitroverbindungen, Aldehyden und Ketonen wurden überprüft, Vereinfachungen und Verbesserungen vorgeschlagen.

Aliphatische Halogenverbindungen konnten erstmalig durch Überführen in Pyridiniumsalze papierchromatographisch getrennt und nachgewiesen werden.

Nitroverbindungen

Die Papierchromatographie von organischen Verbindungen, die Nitrogruppen enthalten, wurde zuerst von *G. N. Smith* und *C. S. Worrell*¹ bei der Untersuchung von Chloromycetin angewendet. *A. G. Glazko*, *W. A. Dilland* und *M. G. Rebstock*² haben bei ähnlichen Untersuchungen die Nitroverbindungen am Chromatogramm mit Titantrichlorid reduziert und durch Kupplung mit N-(1-naphthyl)-äthylendiamindihydrochlorid sichtbar gemacht.

Es sollte nun versucht werden, aromatische Nitroverbindungen, die zum größten Teil wasserunlöslich sind und daher nicht mit Wasser als stationäre Phase trennbar sind, auf acetyliertem Papier (Schleicher und Schüll 2043 b acetyliert) unter hydrophoben Bedingungen zu chromatographieren.

¹ Arch. Biochemistry 28, 1 (1950).

² J. Biol. Chem. 183, 679 (1950).

Zur Sichtbarmachung der Nitroverbindungen auf dem Chromatogramm wurden verschiedene durch *F. Feigl*³ bekanntgewordene Tüpfelreaktionen versucht, z. B. die Kupplung mit diazotierter Sulfanilsäure in bicarbonatalkalischer Lösung. Dabei reagierten besonders substituierte Nitroverbindungen nicht immer und auch nicht eindeutig.

Sehr gut sind jedoch alle Nitroverbindungen im UV-Licht sichtbar, da sie auf dem schwach fluoreszierenden Papier⁴ eine deutliche Fluoreszenzlöschung zeigen und als dunkle Flecken erscheinen. Zur Erhöhung der Kontrastwirkung kann man das Papier mit einer 0,1%igen Lösung von Methylumbelliferron in 50%igem Alkohol besprühen, wodurch die Nitroverbindungen schwarz auf stark lichtblau fluoreszierendem Grund sichtbar werden.

Halogenverbindungen

Die Papierchromatographie von organischen Halogenverbindungen bereitet große Schwierigkeiten, da das Halogen mit den üblichen Reagenzien nicht reagiert und daher diese Verbindungen am Chromatogramm auf diese einfache Weise nicht sichtbar gemacht werden können.

Bei allen bis jetzt durchgeführten Untersuchungen von halogenhaltigen Stoffen, besonders von halogenhaltigen Insekticiden, wurden die aufgetrennten Substanzen durch radioaktive Markierung des Halogens^{5, 6} erfaßt.

Bei den aliphatischen Halogenverbindungen sind besonders die niedrigen Glieder der entsprechenden homologen Reihen dampfförmige, zumindest aber leicht flüchtige Stoffe, deren Aufbringung und Fixierung auf Papier nicht möglich ist. Um eine Papierchromatographie durchzuführen, ist es notwendig, diese Verbindungen in eine nicht flüchtige Form zu bringen, in der das Halogen außerdem noch ionogen gebunden und daher leicht mit Silbernitrat nachweisbar ist.

Es ist nun bekannt, daß man Alkylhalogenide mehr oder weniger leicht durch Behandeln mit trockenem Pyridin in Pyridiniumsalze überführen kann; diese sind nicht flüchtig und enthalten das Halogen in ionogener Form. Wir versuchten daher Pyridiniumsalze der verschiedensten aliphatischen Halogenverbindungen herzustellen.

Nachdem sich gezeigt hatte, daß eine einfache Umsetzung der Halogenalkyle mit Pyridin im Reagenzglas nur bei einigen der untersuchten Ver-

³ *F. Feigl*, Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 3. Aufl. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft. 1938. — Chemistry of Specific, Selective and Sensitive Reactions. New York: Academic Press. Inc. Publisher. 1949.

⁴ Sulfitcellulosepapier.

⁵ *K. Schmeiser* und *D. Jerchel*, Angew. Chem. **65**, 14 (1953).

⁶ *F. D. Winteringham*, *A. Harrison* und *R. G. Budges*, Nature **166**, 999 (1950).

bindungen gelang, führten wir die Umsetzung so durch, daß wir die entsprechenden Halogenverbindungen mit einem Überschuß an trockenem Pyridin in eine starkwandige Epruvette einschmolzen und dann das Reaktionsgemisch in einem Bad (Wasser, Glycerin, Öl) auf eine entsprechende Temperatur brachten, bei der Reaktion erfolgte.

Die fortschreitende Bildung der Pyridiniumsalze war dadurch sichtbar, daß sich entweder ein Niederschlag bildete, zumindest aber Schichtenbildung eintrat. Die Umsetzung der niederen Halogenide dauerte 30 bis 60 Min., die der höheren bis zu 24 Stdn. Die gebildeten Pyridiniumsalze geben in 1%iger methanolischer Lösung mit 0,1 n Silbernitratlösung sofort einen Niederschlag.

Die Pyridiniumsalze werden dann zur Chromatographie in methylalkoholischer Lösung auf acetyliertes Papier aufgebracht und unter nicht hydrophoben Bedingungen (wasserhaltige Lösungsmittel) laufen gelassen.

Die Entwicklung der Chromatogramme gelingt durch Besprühen mit einer mit Dichlorfluorescein sensibilisierten Silbernitratlösung. Dabei fällt das Halogen als leicht rosa gefärbtes Silberhalogenid auf dem Papier aus. Betrachtet man das Chromatogramm unter UV-Licht, so sind die Halogenverbindungen als dunkle Flecken auf dem schwach fluoreszierenden Grund gut sichtbar. Die Bezeichnung der Flecken muß möglichst rasch (innerhalb 1 Std.) nach dem Besprühen vorgenommen werden, da sich das Chromatogramm dunkelviolettt verfärbt.

Aldehyde und Ketone

Zur papierchromatographischen Trennung werden Carbonylverbindungen meist zuerst als 2,4-Dinitrophenylhydrazone gefällt und in dieser Form angewendet⁷.

Die Dinitrophenylhydrazone der Carbonylverbindungen sind, wie bekannt, wasserunlöslich und können daher unter normalen Bedingungen mit Wasser als stationäre Phase nicht aufgetrennt werden, da sie die Tendenz haben, an die Lösungsmittelfront zu wandern. Die verschiedenen Bearbeiter versuchten daher durch Verwendung bestimmter Lösungsmittelgemische und besonders imprägnierter Papiere diesen Übelstand zu vermeiden.

Besonders *J. V. Kostř* und *K. Slavik*⁸ haben sich damit eingehend befaßt und haben als stationäre Phase *n*-Octanol und chlorierte Kohlenwasserstoffe verwendet, welche sie auf acetyliertem Papier fixierten.

⁷ *R. G. Rice, G. J. Keller und J. G. Kirchner, Analyt. Chemistry* **23**, 194 (1951). — *T. Fukuda, J. Sericult. Sci. Japan* **20**, 444 (1951). — *V. Sykora und Z. Prochaska, Chem. Listy* **47**, 1674 (1953). — *H. S. Lynn, L. A. Steele und E. Staple, Analyt. Chemistry* **28**, 132 (1956). — *W. T. Schmitt et al., ebenda* **28**, 249 (1956). — *D. A. Forss, E. A. Dunstone und W. Stark, Chem. and Ind.* **1954**, 1292.

⁸ *Coll. Czechoslovak Chem. Commun.* **15**, 17 (1950).

Nach Überprüfung der verschiedenen Methoden haben wir nun gefunden, daß man die Dinitrophenylhydrazone der Carbonylverbindungen ohne weiteres auf acetyliertem Papier (Schleicher und Schüll 2043 b acetyliert) chromatographieren kann. Als Lösungsmittel eignet sich dazu besonders Butanol : Methanol : Ameisensäure und Petroläther : Methanol : Äthylacetat. Die aufgetragene Substanzmenge darf nicht zu groß sein, da sonst die Trennschärfe ungenügend ist.

Die aufgetrennten Dinitrophenylhydrazone können im UV-Licht am Chromatogramm als dunkle, scharf umrandete Punkte auf leicht fluoreszierendem Hintergrund gut erkannt werden.

Experimenteller Teil*

Nitroverbindungen

Von einer 0,1- bis 1%igen Lösung der Nitroverbindungen in Methanol wurden 0,5 γ auf Chromatographierpapier Schleicher und Schüll 2043 b, acetyliert, aufgetragen und aufsteigend chromatographiert.

Untersuchte Verbindungen	R_f -Werte in den Laufmitteln		
	1	2	3
Nitrobenzol.....	0,78	0,68	—
Dinitrobenzol:			
ortho.....	0,44	0,46	0,52
meta.....	0,46	—	—
para.....	—	—	—
sym. Trinitrobenzol.....	0,47	0,42	—
Nitrotoluol:			
ortho.....	0,61	—	0,76
meta.....	0,68	—	—
para.....	0,68	—	—
2,6-Dinitrotoluol.....	0,63	0,55	—
Trinitrotoluol.....	0,37	0,39	—
Nitroxylol:			
ortho (1,2,3).....	0,71	—	0,79
meta (1,3,4).....	0,77	—	—
para (1,2,4).....	0,77	—	—
Nitrochlorbenzol:			
ortho.....	0,58	—	0,75
meta.....	0,60	—	—
para.....	0,61	—	—
3,4,5-Tribromnitrobenzol..	0,76	0,81	—
1-Nitronaphthalin.....	0,73	—	—
1,8-Dinitronaphthalin.....	0,58	0,35	—
p-Nitrophenol.....	0,75	—	—
o-Nitrobenzaldehyd.....	0,79	—	0,71

* Diplomarbeit A. Kabil, Techn. Hochschule Wien (1956).

Als Laufmittel wurden verwendet:

1. Butanol : Methanol : Ameisensäure = 83 : 15 : 2.

2. Petroläther : Methanol : Äthylacetat = 65 : 15 : 20.

3. Butanol (wassergesättigt) : Methanol : Ameisensäure : Wasser = 75 : 15 : 2 : 8.

Diese Laufmittel zeigten eine gute Auftrennung der einzelnen Substanzen, die als kleine, scharf umgrenzte Flecken aufscheinen. Die Chromatogramme können an der Luft oder im Trockenschrank bei 105° getrocknet werden.

Die Laufzeit beträgt bei einer Laufhöhe von 10 cm zirka 2¹/₂ Stdn., bei 35 cm Laufhöhe 24 Stdn.

Es ist allerdings nicht möglich, einzelne Isomere, z. B. m- und p-Dinitrobenzol oder m- und p-Nitrotoluole, mit den angegebenen Lösungsmitteln zu trennen, für diese Substanzen müssen spezifische Lösungsmittel angewendet werden.

Halogenverbindungen

Die Pyridiniumsalze der Alkylhalogenide werden in 1%iger methanol. Lösung auf Papier Schleicher und Schüll 2043 b, acetyliert, so aufgetragen, daß nicht mehr wie 0,0005 g Substanz auf einen Punkt vorhanden ist. Als beste Laufmittel wurden folgende Gemische gefunden:

1. Butanol : Methanol : Ameisensäure : Wasser = 75 : 15 : 2 : 8.

2. Butanol, wassergesättigt : Methanol : Ameisensäure : Wasser = 75 : 15 : 2 : 8.

Lösungsmittelgemische mit weniger als 75% Butanol (z. B. 68% Butanol, 15% Methanol, 2% Ameisensäure, 15% Wasser) zeigen höhere R_f -Werte und daher eine schlechtere Differenzierung der einzelnen Substanzen.

Die Laufzeit bei 10 cm Laufhöhe beträgt zirka 2 Stdn., bei 35 cm Laufhöhe zirka 24 Stdn.

Nach dem Trocknen der Chromatogramme im Trockenschrank auf 105° wird zur Entwicklung mit einer 0,1 n Silbernitratlösung, die etwas methanolhältig ist, besprüht. 10 ccm der Silbernitratlösung werden noch mit 1 ccm einer 0,1%igen Dichlorfluoresceinlösung in Alkohol sensibilisiert.

Untersuchte Verbindungen	R_f -Werte in den Laufmitteln	
	1	2
Methyljodid	0,27	0,57
Äthylchlorid	0,36	0,63
Äthyljodid	0,46	0,66
Isopropylbromid	0,54	0,68
n-Butylbromid	0,63	0,79
n-Butyljodid	0,66	0,81
Isobutyljodid	0,63	0,73
Isoamyljodid	0,39	0,63
Octylchlorid	0,71	0,91
Trimethylenbromid	0,48	0,71
Dichloräthylen	0,39	0,68

Aldehyde und Ketone

Die Aldehyde und Ketone werden mit einer 0,4%igen Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2 n HCl als Dinitrophenylhydrazone gefällt und

eventuell zur Reinigung aus Alkohol umkristallisiert. Die Hydrazone werden als 0,1- bis 0,2%ige methanol. Lösung auf das acetylierte Papier Schleicher und Schüll 2043 b gebracht, wobei die Substanzmenge nicht mehr als 0,1 bis 0,2 mg betragen soll; die entstandenen Flecken sollen keinen größeren Durchmesser als 0,5 cm haben.

Laufmittel:

1. Butanol : Methanol : Ameisensäure = 83 : 15 : 2.
2. Petroläther : Methanol : Äthylacetat = 65 : 15 : 20.
3. Petroläther : Methanol : Äthylacetat = 75 : 15 : 20.

Untersuchte Verbindungen	<i>R_f</i> -Werte in den Laufmitteln		
	1	2	3
Formaldehyd	0,44	0,48	0,19
Acetaldehyd	0,52	0,57	0,31
Propionaldehyd	—	0,70	0,37
Butyraldehyd	0,64	0,63	—
Crotonaldehyd	—	0,67	0,34
Valeraldehyd	—	0,92	0,54
Hexylaldehyd	—	0,47	0,39
Heptylaldehyd	0,74	0,84	—
Dimethylketon	0,56	0,58	0,44
Diäthylketon	—	0,70	0,66
Methylpropylketon	—	—	0,66
Diisopropylketon	—	0,80	0,84
Methylisobutylketon	0,71	0,77	—
Acetylaceton	0,22	0,53	—
Cyclopentanon	—	0,38	0,28

Das Gemisch 2 gibt eine bessere Differenzierung der einzelnen Substanzen.

Bei Versuchen, an Stelle von Petroläther reine höhere aliphatische Kohlenwasserstoffe, z. B. n-Hexan, n-Heptan und n-Octan, zu verwenden, zeigte sich, daß die Differenzierung um so besser ist, je höher das Molekulargewicht des Kohlenwasserstoffes ist. Während n-Hexan nur eine schlechte Differenzierung ergibt, kann mit n-Octan noch eine weit bessere Differenzierung als mit Petroläther erreicht werden. So können die Aldehyde C₇, C₈ und auch höhere mit einem 80% n-Octan-haltigem Lösungsmittel (n-Octan : Propanol : Methanol = 80 : 10 : 10) ohne weiteres getrennt werden.

Laufmittel mit cyclischen Kohlenwasserstoffen, wie Benzol, Toluol und Tetrahydrofuran, bewirken Streifenbildung über das ganze Chromatogramm. Von den Alkoholen erwies sich die Verwendung von Methanol am günstigsten, da es die Ausbildung von kleinen runden Flecken bewirkt. Äthylalkohol, Propylalkohol bewirken ein Länglichwerden der Punkte.

Chromatographiert wird aufsteigend auf Zylindern, Papiergröße 16 × 16 cm. Die Substanzen werden auf der Grundlinie in Abständen von 2 cm aufgetragen und ungefähr 10 cm laufen gelassen. Die Laufzeit ist für das Gemisch 1 1½ Stdn., für das Gemisch 2 und 3 ½ bis 1 Std.

Zur Sichtbarmachung der Dinitrophenylhydrazone wird nicht wie bei den anderen Autoren mit einer 10%igen wäßr. Natronlauge besprüht, sondern das Chromatogramm einfach im UV-Licht betrachtet, wobei die Dinitrophenylhydrazone wie alle Nitrogruppen enthaltende Verbindungen eine

starke Fluoreszenzlöschung auf dem schwach fluoreszierenden Papier geben. Besprüht man das Papier mit einer 0,1%igen Lösung von Methylumbelliferron in 50%igem Alkohol, wird die Kontrastwirkung verstärkt.

Als Übungsbeispiele wurden folgende künstliche Gemische mit Laufmittel 1 chromatographiert:

- a) Formaldehyd, Acetaldehyd, Butylaldehyd, Octylaldehyd.
- b) Formaldehyd, Aceton, Heptylaldehyd.

Mit Laufmittel 3:

- c) Formaldehyd, Butyraldehyd, Heptylaldehyd, Aceton.
- d) Formaldehyd, Aceton, Methylisobutylketon.

Obwohl sich die R_f -Werte der Substanzen höchstens um 0,07 bis 0,1 unterscheiden, können die Flecken im UV-Licht einwandfrei nebeneinander festgestellt werden.