

# Die Papierelektrophorese aliphatischer Aldehyde

4. Mitteilung zur Kenntnis der Elektrophorese

Von

**H. Berbalk**

Aus dem Institut für Organische Chemie der Techn. Hochschule Wien

(Eingegangen am 26. Juli 1958)

Es wird eine Methode zur Analyse aliphatischer Aldehyde beschrieben, bei der Ketone nicht stören. Die Aldehyde werden in die Hydroxamsäuren übergeführt und nach der papierelektrophoretischen Trennung am Papier als Eisen(III)-salze nachgewiesen.

Wir haben früher<sup>1</sup> über die papierelektrophoretische Trennung organischer Säuren berichtet und auch auf den Zusammenhang zwischen der Wanderungsgeschwindigkeit und der Dissoziationskonstante hingewiesen<sup>2</sup>. Es war nun naheliegend, diese Ergebnisse auch auf andere saure Substanzen auszudehnen.

Bisher wurden in der Literatur nur elektrophoretische Trennungsmethoden für Aminosäuren, Farbstoffe, Polyalkohole (als Boratkomplexe) und gewisse Kohlehydrate sowie einige Naturstoffe und Säuren bekannt<sup>3</sup>. Die Trennung anderer Substanzen schien nicht systematisch untersucht worden zu sein. Lediglich eine Arbeit, die uns während der Durchführung der vorliegenden Untersuchung bekannt wurde, beschäftigt sich mit der Trennung von Aldehyden und Ketonen<sup>4</sup>. Hierbei wurde von der Tatsache ausgegangen, daß Aldehyde und Ketone mit Natriumbisulfit  $\alpha$ -Hydroxysulfosäuren liefern, die als sehr starke Säuren der Papierelektrophorese zugänglich sind. Die Autoren verweisen jedoch gleich-

<sup>1</sup> H. Berbalk und O. Schier, Mh. Chem. **86**, 146 (1955).

<sup>2</sup> H. Berbalk und O. Schier, Mh. Chem. **88**, 1095 (1957).

<sup>3</sup> Vgl. z. B. H. Michl, J. Chromatogr. **1**, 93 (1958).

<sup>4</sup> O. Theander, Acta chem. Scand. **11**, 717 (1957).

zeitig darauf, daß eine Reihe von Aldehyden und Ketonen unter den gewählten Bedingungen keine Additionsverbindungen geben, daher also nicht trennbar sind.

Wir hatten ursprünglich ebenfalls und unabhängig von den oben zitierten Autoren<sup>4</sup> die leicht erhältlichen Bisulfitverbindungen untersucht. Diese wurden einerseits auf dem üblichen Weg in sehr verdünnten Lösungen hergestellt und sodann auf den Elektrophoresestreifen aufgetragen, der mit Pufferlösungen verschiedenen pH-Wertes getränkt war, andererseits wurden Aldehyde in alkohol. Lösung direkt auf einen mit Natriumbisulfit und Puffer getränkten Streifen aufgetragen. Da die Bisulfitverbindungen starke Säuren sind, ihre Dissoziationskonstante also groß ist, sind die Wanderungswerten ebenfalls ziemlich groß. Diesem an sich erwünschten Effekt steht allerdings entgegen, daß der Einfluß der Aldehydkomponente relativ gering ist, so daß uns die erzielte Trennwirkung nicht ganz befriedigte. Bei amphoterer Verbindungen, wie sie Aminosäuren darstellen, ist es nun verhältnismäßig einfach, durch Wahl eines geeigneten Puffers die Dissoziation auf das optimale Maß einzustellen. Bei Säuren ist dies nicht im gleichen Umfang möglich, da sie keinen isoelektrischen Punkt besitzen. Man muß daher eine saure Grundlösung benutzen, deren pH-Wert um so kleiner zu halten ist, je stärker die untersuchten Säuren sind. Für die hier interessierenden  $\alpha$ -Hydroxysulfosäuren wäre der pH-Wert etwa zwischen 1,5 und 2 zu wählen, um eine gute Trennung zu erhalten. In diesem Bereich sind die Bisulfitverbindungen jedoch nicht mehr beständig (die Grenze liegt, je nach Aldehyd, bei pH 2,0–2,5).

Eine weitere Möglichkeit, um aus Aldehyden zu schwächer sauren Verbindungen zu gelangen, bieten die Hydroxamsäuren, die leicht aus Aldehyd und Benzolsulphydroxamsäure erhältlich sind. Sie sind schwache Säuren, beständig im alkalischen Bereich, als Eisen(III)-salze durch ihre violette Farbe leicht nachweisbar und bieten außerdem den Vorteil, daß Ketone die Hydroxamsäurebildung nicht geben. Damit gelingt es sehr einfach, Aldehyde von Ketonen zu trennen. Da die Bildung der Eisenhydroxamate unter bestimmten Bedingungen quantitativ verläuft<sup>5</sup>, dürfte sich hier auch ein Weg zur quantitativen Bestimmung von Aldehyden mit Hilfe der Elektrophorese eröffnen.

In Ermangelung eines geeigneten Kolorimeters mußten wir uns allerdings zunächst auf die qualitative Untersuchung der aliphatischen Aldehyde beschränken, wobei sich folgende Arbeitsweise als am zweckmäßigsten erwiesen hat:

Die Aldehyde (oder das zu untersuchende Gemisch) werden in wäßriger oder wäßrig-methylalkohol. Lösung mit einem Körnchen reiner Benzolsulphydroxamsäure und anschließend mit etwa 1 ccm 2 n-Natronlauge versetzt und kurz erwärmt. Die so erhaltene Lösung von Natriumhydroxamat wird nun auf den Elektrophoresestreifen, der mit n/10 NaOH

<sup>5</sup> E. Bayer, K. H. Reuther und R. Ter Heide, Chem. Ber. **90**, 1929 (1957); vgl. auch E. Bayer und K. H. Reuther, Chem. Ber. **89**, 2541 (1956), und Angew. Chem. **68**, 698 (1956).

als Laufmedium getränkt ist und zwischen zwei Walzen abgepreßt wurde, aufgebracht und in der früher<sup>1</sup> beschriebenen Apparatur der Elektrophorese unterworfen. Die Verwendung einer Pufferlösung erwies sich als überflüssig, da bei dem angewendeten pH von etwa 13 deren Kapazität ohnehin nur gering ist und eine Veränderung des Laufmediums während der kurzen Laufzeiten kaum befürchtet werden muß. Zweckmäßig ist es jedoch, die beiden Gefäße, in die die Filterpapierbrücken eintauchen, ebenfalls mit n/10 NaOH zu füllen und diese Füllung häufig zu erneuern. Bei einer durchschnittlichen Arbeitsspannung von 20 V/cm ist die Trennung in etwa 30 Min. beendet. Die Streifen werden kurz an der Luft getrocknet, um beim folgenden Besprühen ein Verlaufen der Flecken zu vermeiden. Das Sichtbarmachen der getrennten Hydroxamsäuren erfolgt durch Besprühen mit einer schwach salzsauren, wäßr. 1,5%igen Lösung von Fe(III)-chlorid. Die Hydroxamate erscheinen als violette Flecke auf weißem Grund. Die bei der Reaktion von Benzolsulphydroxamsäure mit Aldehyden gebildete Benzolsulfinsäure gibt mit Ferrichlorid gelbe Flecke, doch wandert die Sulfinsäure unter den gewählten Bedingungen wesentlich schneller als die Hydroxamsäuren, so daß sie den Nachweis der letzteren nicht stört.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die nach dieser Methode untersuchten Aldehyde, wobei  $w_F$  die relative Wanderungsweite des betreffenden Aldehyds bezogen auf die Wanderungsweite von Formaldehyd (= 100) bedeutet.

Die Wanderungsgeschwindigkeit des Formaldehyds beträgt im Mittel  $12 \times 10^{-5}$  cm<sup>2</sup>/sec. V.

Tabelle 1. Relative Wanderungsweiten  $w_F$  der Aldehyde. Papier: Schleicher & Schüll 2043 b, Laufmittel: n/10 NaOH

Aldehyd	$w_F$
Formaldehyd	100
n-Butanal	64
n-Pentanal	57
iso-Pentanal	59
n-Hexanal	52
2-Äthylbutanal	44
n-Heptanal	47
n-Octanal	41
2-Äthylhexanal	47
Decanal	30
iso-Dodecanal	13
Crotonaldehyd	66
Citral	46
Citronellal	81
Benzaldehyd	67
Zimtaldehyd	44

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Wanderungsgeschwindigkeiten der *n*- und *iso*-Verbindungen einen kleinen Unterschied aufweisen, so daß bei genügend langen Elektrophoresezeiten eine Trennung dieser Isomeren erzielbar ist. Eine Gesetzmäßigkeit bei dieser Erscheinung konnte allerdings nicht beobachtet werden.

Die beiden am Schluß der Tabelle angeführten aromatischen Aldehyde zeigen, daß die beschriebene Methode auch für diese Verbindungsklasse brauchbar ist. Eine Einschränkung ist allerdings dort gegeben, wo die Herstellung der Hydroxamate versagt, wie dies für manche aromatische Aldehyde (z. B. gewisse *o*-substituierte Aldehyde) bekannt ist.

Wenngleich für Aldehyde eine erhebliche Anzahl von Bestimmungsmethoden, vor allem papierchromatographische, bekannt sind, so liegt der große Vorteil der hier beschriebenen Methode einerseits in der relativ kurzen Analysendauer und andererseits darin, daß Ketone nicht stören.