

# Die Papierelektrophorese ein- und mehrwertiger Alkohole

5. Mitt. zur Kenntnis der Elektrophorese

Von

**H. Berbalk**

Aus dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Wien

Mit 2 Abbildungen

*(Eingegangen am 10. Dezember 1958)*

Es wird erstmalig eine Methode zur papierelektrophoretischen Trennung ein- und mehrwertiger primärer und sekundärer Alkohole in der Form ihrer Xanthogenate beschrieben. Die Brauchbarkeit dieser Methode wird an einer größeren Zahl von aliphatischen und einigen araliphatischen Alkoholen sowie an Furfurylalkohol bewiesen. Außerdem werden zwei aliphatische Mercaptane untersucht. Die Abhängigkeit der Laufweiten der Xanthogenate von der Verzweigung sowie von Stellung und Zahl der Hydroxylgruppen wird näher untersucht.

Die Papierelektrophorese gewinnt in letzter Zeit immer größere Bedeutung in der organisch-analytischen Chemie, ähnlich wie die Papierchromatographie. Gegenüber dieser hat sie jedoch den Vorteil wesentlich kürzerer Analysendauer, besonders in der Form der Hochvoltelektrophorese, also bei einem Spannungsgefälle von etwa 10 V/cm und darüber. Da jedoch nur geladene Teilchen im elektrischen Spannungsfeld wandern (wenn man von elektroosmotischen Effekten absieht), ist diese Untersuchungsmethode auf ionisierte oder ionisierbare Substanzen beschränkt. Demgemäß sind bisher in erster Linie Aminosäuren, Carbonsäuren, Sulfosäuren und Amine untersucht worden. Weiters liegen einige Arbeiten über Farbstoffe, Alkaloide und andere Naturstoffe vor, die über saure oder basische Gruppen verfügen. Alle diese Stoffe sind ionisiert (die Amine als Salze) und daher unmittelbar der Elektrophorese zugänglich. Neutralstoffe hingegen müssen zunächst in geeignete dissoziierbare Derivate übergeführt werden. Ein seit langem bekanntes Beispiel bieten gewisse Kohlehydrate, die in Boratpuffern elektrophoretisch getrennt werden

können<sup>1</sup>. Es werden Boratkomplexe mit sauren Eigenschaften gebildet, wenn wenigstens zwei benachbarte Hydroxylgruppen in cis-Stellung vorliegen. Die *trans*-Stellung führt zu keiner Leitfähigkeitserhöhung, ein Zeichen dafür, daß derartige Komplexe nicht gebildet werden. Aber auch cis-ständige OH-Gruppen, die nicht benachbart sind, führen zu keiner Komplexbildung. Eine Ausnahme bilden gewisse Cyclite mit 1,3,5-ständigen Hydroxylgruppen, die sogenannte „Tridentat-Komplexe“ liefern<sup>2</sup>.

Bei Kohlehydraten besteht allerdings auch die Möglichkeit, die Carbonylgruppe entweder in die N-Benzylglycosammoniumverbindung überzuführen oder aber in Bisulfitlösung zu arbeiten, wodurch die Bisulfitverbindung gebildet werden soll<sup>3</sup>. Die Bildung derartiger Bisulfitadditionsverbindungen hat auch *O. Theander*<sup>4</sup> in letzter Zeit zur Trennung anderer Aldehyde und Ketone herangezogen. Wir selbst konnten vor kurzem zeigen<sup>5</sup>, daß die Hydroxamsäuren, die aus Aldehyden und Benzolsulfohydroxamsäure sehr leicht gebildet werden, zur papierelektrophoretischen Bestimmung der Aldehyde bei gleichzeitiger Trennung von Ketonen sehr geeignet sind.

Es war nun naheliegend, dieses günstige Ergebnis bei der Trennung schwach saurer Verbindungen, wie sie die Hydroxamsäuren sind, auch auf andere Substanzklassen auszudehnen. Primäre und sekundäre Alkohole geben bei der Umsetzung mit NaOH und Schwefelkohlenstoff bekanntlich die entsprechenden Xanthogenate, die ebenfalls schwache Säuren sind. Tertiäre Alkohole geben diese Reaktion allerdings nicht, sondern führen zu ungesättigten Verbindungen.

Die Xanthogenate erhält man am einfachsten so, daß man einige Tropfen des entsprechenden Alkohols (oder Gemisches) mit wenig konzentrierter Natronlauge oder, bei höheren Alkoholen, mit festem NaOH kurz erwärmt, sodann 1—2 ccm Schwefelkohlenstoff zugibt, eventuell nochmals kurz erwärmt und schließlich mit Wasser verdünnt. Die so gebildeten Xanthogenate brauchen nicht isoliert zu werden, sondern man kann die erhaltene wäßrige Lösung unmittelbar der Elektrophorese unterwerfen. Als Träger haben wir Chromatographierpapier S & S 2043 b verwendet, als Laufmittel zunächst 0,05 n NaOH. Diese gibt zwar relativ große Wanderungsweiten, doch werden die Flecken vor allem bei den niederen Alkoholen ziemlich groß und verwaschen. Wesentlich besser bewährt hat sich schließlich ein Veronalpuffer (pH 9,8), in dem die Xanthogenate zwar etwas langsamer wandern, der

<sup>1</sup> Vgl. z. B. *H. Michl*, J. Chromatogr. **1**, 93 (1958); dort auch weitere Literatur.

<sup>2</sup> *S. J. Angyal* und *D. J. McHugh*, J. Chem. Soc. [London] **1957**, 1423; *A. B. Foster*, Chem. & Ind. [London] **1953**, 591; *A. B. Foster* und *M. Stacey*, Chem & Ind. [London] **1953**, 279.

<sup>3</sup> *S. A. Barker*, *E. J. Bourne*, *P. M. Grant* und *M. Stacey*, Nature **177**, 1125 (1956), **178**, 1221 (1956); *J. L. Frahn* und *J. A. Mills*, Chem. & Ind. [London] **1956**, 1137.

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

<sup>5</sup> *H. Berbalk*, Mh. Chem. **89**, 536 (1958).

aber dafür sehr scharfe Flecken liefert. Die Verwendung eines stärker alkalischen Glycokollpuffers ergab ebenfalls keine befriedigenden Ergebnisse.

Der Nachweis der Xanthogenate erfolgte nach der Elektrophorese zunächst durch Besprühen der durch Warmluft getrockneten Papierstreifen mit einer 3-proz. Lösung von Phosphormolybdänsäure in wäßriger Salzsäure (1:1). Die Xanthogenate erscheinen sofort nach dem Sprühen als rotviolette Flecke, die rasch verblassen und erst nach einiger Zeit als blaue Flecke wieder erscheinen. Die Streifen selbst werden, wenn sie nicht im Dunkeln aufbewahrt werden, ebenfalls blau, so daß es manchmal schwer ist, die etwas intensiver blauen Flecken auf dem blauen Untergrund zu erkennen. Bekanntlich fällen Kupfersalze aus Natriumxanthogenatlösungen gelbes bis braungelbes Kupfer(I)-xanthogenat. Wir haben daher eine schwach essigsäure 1-proz. Kupferacetatlösung (1 g Kupferacetat in 100 ccm Wasser in der Wärme lösen und zur Verhinderung der Hydrolyse einige Tropfen Eisessig zugeben) als Sprühmittel benützt. Die trockenen Elektropherogramme lassen nach dem Sprühen mit dieser Lösung die Xanthogenate als leuchtend gelbe, scharfe Flecke auf weißem Grund erscheinen. Der Nachweis ist sehr empfindlich.

Tabelle 1. Relative Wanderungsweiten prim. und sek. Alkohole, als Xanthogenate, bezogen auf Methanol (Methylxanthogenat) = 100

(Papier S & S 2043 b, Veronalpuffer pH 9,8)

Methanol	100	2-Äthylbutanol	63
Äthanol	87	2-Äthylhexanol	49
n-Propanol	74		
n-Butanol	74	Äthylenglykol	72
n-Pentanol	68	Propylenglykol-1,3	81
n-Hexanol	61	Butylenglykol-1,3	72
n-Octanol	47	Hexylenglykol-2,4	65
n-Nonanol	37		
iso-Propanol	81	Benzylalkohol	72
iso-Butanol	72	$\alpha$ -Phenyläthylalkohol	69
sek. Butanol	76	$\beta$ -Phenyläthylalkohol	61
iso-Pentanol	71	Furfurylalkohol	78

Die Elektrophorese wurde in der früher beschriebenen Apparatur<sup>6</sup> bei einer Spannung von etwa 20—25 V/cm durchgeführt. Die Analysendauer beträgt etwa 30 Minuten, die Wanderungsweite für Methanol (als Xanthogenat) unter diesen Bedingungen 6—7 cm. Die scheinbare Ionenbeweglichkeit wurde für Methanol zu  $10,5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$  gefunden. In der obenstehenden Tabelle sind die Untersuchungsergebnisse zusammengestellt, wobei der besseren Übersicht wegen nur die Alkohole angeführt sind.

<sup>6</sup> H. Berbalk und O. Schier, Mh. Chem. 86, 146 (1955).

Selbstverständlich wurden sie als Xanthogenate untersucht. Die angeführten Zahlen sind relative Wanderungsweiten, bezogen auf die Wanderungsweite von Methanol gleich 100.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, fällt die relative Wanderungsweite mit steigender C-Zahl, was auch zu erwarten war. Eine Kettenverzweigung setzt die Werte hinauf, ebenso die Einführung einer zweiten OH-Gruppe. Sekundäre Alkohole wandern schneller als primäre und die Anwesenheit eines aromatischen oder heterocyclischen Ringes im Molekül führt ebenfalls zur Erhöhung der Wanderungsweite, wobei die Stellung der OH-Gruppe einen zusätzlichen Einfluß ausübt (vgl. z. B. n-Octanol,  $\alpha$ -Phenyläthylalkohol,  $\beta$ -Phenyläthylalkohol).

Alle diese Befunde waren zu erwarten, da ja bekannt ist, daß die Dissoziationskonstanten der Alkohole selbst durch die gleichen strukturellen Eigenschaften in ähnlicher Weise beeinflusst werden. Völlig unerwartet war jedoch, daß n-

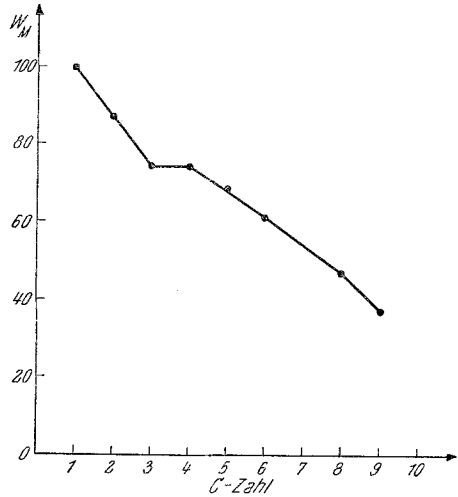


Abb. 1. Relative Wanderungsweite von Xanthogenaten aliphatischer prim. n-Alkohole in Abhängigkeit von der C-Zahl (bezogen auf Methylxanthogenat = 100)

Propanol und n-Butanol die gleichen Wanderungsweiten zeigten. Bei näherer Untersuchung zeigt sich, daß die Abnahme dieser Größe in der Reihe Methanol-Äthanol-n-Propanol stärker ist als bei den folgenden normalen primären Alkoholen. Besonders gut ist dies in Abb. 1 ersichtlich, in der die Steigung der Verbindungsgeraden zwischen C<sub>3</sub> und C<sub>4</sub> einen deutlichen Knick aufweist.

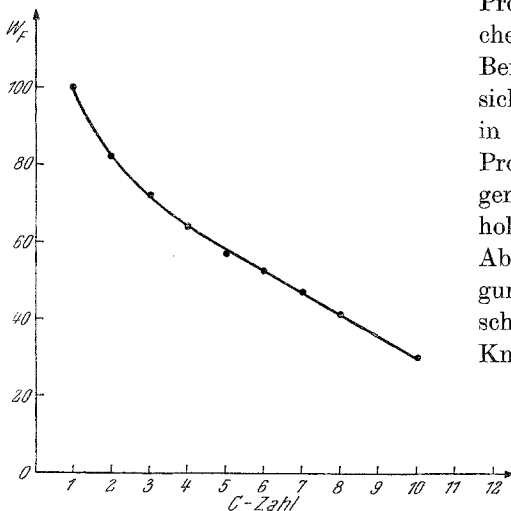


Abb. 2. Relative Wanderungsweite von Hydroxamsäuren aliphatischer n-Aldehyde in Abhängigkeit von der C-Zahl (bezogen auf Formhydroxamsäure)

Da primäre Alkohole mit verzweigter Kette höhere Wanderungsweiten besitzen, kann man diesen unerwarteten Effekt möglicherweise einer Kettenverknäulung zuschreiben, die sich ja erst bei C-Zahlen größer als 3 stärker

bemerkbar macht. Interessanterweise tritt dieser Sprung bei den Hydroxamsäuren der von uns untersuchten Aldehyde<sup>5</sup> nicht ein, wie Abb. 2 zeigt.

Hier ist die Verbindungslinie bei den ersten Gliedern der Reihe lediglich etwas gekrümmt (die Werte für Acetaldehyd und n-Propanal wurden neu aufgenommen). Die Anfangskrümmung liegt jedoch in der gleichen Richtung wie bei den Alkoholen und scheint damit ein Beweis für die angenommene Verknäulung zu sein. Genauere Aufschlüsse könnten möglicherweise Viskositätsmessungen an Lösungen der betreffenden Verbindungen liefern.

Im Anschluß an die Untersuchung der Alkohole haben wir noch zwei Merkaptane der Papierelektrophorese unterworfen. Für diese Substanzen eignet sich 0,05 n NaOH als Laufmittel. Die getrennten Merkaptane werden am besten noch feucht mit 2-proz. wäßr. Nitroprussidnatriumlösung besprüht, wodurch sie sofort als rotviolette Flecke sichtbar werden. Ein Trocknen der Streifen empfiehlt sich wegen der großen Flüchtigkeit vor allem der niederen Glieder dieser Reihe nicht. Die erhaltenen Werte sind auf Methylxanthogenat = 100 bezogen.

Tabelle 2. Relative Wanderungsweiten der Mercaptane,  
bezogen auf Methylxanthogenat = 100

(Papier S & S 2043 b, 0,05 n NaOH, Spannung etwa 20 V/cm, Laufzeit  
30 Minuten)

Äthylmercaptan	68
Amylmercaptan	51

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß erstmalig nach der hier beschriebenen Methode nun auch primäre und sekundäre Alkohole sowie Mercaptane der papierelektrophoretischen Analyse leicht zugänglich geworden sind, wobei die Trenneffekte als gut zu bezeichnen sind. Es ist damit möglich geworden, Alkoholgemische wesentlich rascher zu untersuchen, als dies durch Papierchromatographie bisher möglich war. Durch Anwendung besserer Kühlung kann die Feldspannung wesentlich gesteigert und damit die von uns benötigte Analysendauer von etwa 30 Min. erheblich gesenkt werden, so daß eine ausgesprochene Schnellmethode zur Trennung von Alkoholen und Mercaptanen zur Verfügung steht.

Frau *I. Szabolcs* möchte ich an dieser Stelle für die Hilfe bei der Durchführung der Versuche meinen Dank aussprechen.