

М. Б. НЕЙМАН, В. Н. ЛЕВКОВСКИЙ и А. Ф. ЛУКОВНИКОВ

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ ДИНИТРОФЕНИЛГИДРАЗОНОВ НА АЦЕТИЛИРОВАННОЙ БУМАГЕ

(Представлено академиком Н. Н. Семеновым 16 X 1951)

Химические методы дают возможность разделить сложные смеси органических соединений на большие группы сходно построенных соединений. Разделение это обычно осуществляется путем осаждения аналогов групповым реактивом. Дальнейшее разделение аналогов представляет для химика задачу необычайно трудную, во многих случаях практически неосуществимую. Большую помощь в данном случае оказывают хроматографические методы разделения смесей, в частности метод бумажной хроматографии.

Методом бумажной распределительной хроматографии уже осуществлен качественный и количественный микроанализ сложных смесей аминокислот, пептидов, сахаров и ряда других органических соединений (1, 2). К сожалению, сфера применения метода ограничивается полярными, хорошо растворимыми в воде соединениями. Разделение неполярных, гидрофобных веществ на обычной бумаге невозможно в силу самой природы бумаги. Эти вещества не адсорбируются на целлюлозе, имеющей выраженную полярную поверхность. Указанный факт является существенным недостатком метода, так как он исключает возможность сочетания бумажной хроматографии с химическими методами предварительного разделения.

Ряд исследователей пытался устранить этот недостаток, пропитывая фильтровальную бумагу различными адсорбентами или органическими клеями. Таким образом иногда удавалось повысить адсорбционную способность бумаги к малополярным веществам. Имеются указания на успешное применение с этой целью хлористого алюминия (3) и каучукового латекса (4). В нашей работе был применен более рациональный химический метод обработки бумаги, предложенный Костиром (5). Идея метода заключается в повышении гидрофобности бумаги за счет замены полярных гидроксильных групп в целлюлозе на группы ацетила. Такая замена легко осуществляется реакцией ацетилирования древесины уксусным ангидридом в присутствии катализатора.



Свойства продукта ацетилирования — ацетилцеллюлозы совершенно отличны от свойств исходной целлюлозы. Она хорошо растворяется в ряде органических растворителей и не впитывает в себя воду.

В результате многочисленных опытов нами были установлены оптимальные условия ацетилирования отечественной фильтровальной бумаги для хроматографических целей. Мы получили прочную, чистую и годную для хроматографического разделения альдегидов бумагу по следующей методике ацетилирования.

а) 1000 мл толуола смешивается в делительной воронке с 80 мл углекислого ангидрида. Затем в смесь приливается 2,5 мл H_2SO_4 ($d = 1,84$). После непродолжительного взбалтывания смесь отстаивается в течение 2—3 час. до полного отслаивания серной кислоты. Затем кислота тщательно отделяется, после чего смесь готова к употреблению.

Таблица 1

Зависимость удельного веса ацетилирующей смеси и качества бумаги от времени ацетилирования

Время в часах	d , г/мл	Растворимость бумаги в хлороформе	Разделение смеси формальдегид + ацетальдегид
0	0,8798	Не раствор.	—
2	0,8766	" "	—
3,5	0,8757	" "	Смесь ползет по- лосой
5	0,8748	Набухает	То же
6,5	0,8744	" "	Плох. разделение
8,9	0,8736	Плохо раствор.	Хор. разделение
9,5	0,8735	Хорошо раствор.	" "

б) 50—60 г (не больше) фильтровальной бумаги в виде полос, свернутых рулоном, помещается в стеклянный цилиндр с шлифованной крышкой и заливается 1000 мл ацетилирующей смеси. Затем цилиндр с бумагой помещается в термостат при 60° до конца ацетилирования. Для получения равномерно ацетилированной бумаги необходимо периодически (через 0,5—1 час) перемешивать ре-

акционную смесь. Ацетилирование заканчивается обычно через 10—12 час.

Конец ацетилирования мы определяли по растворимости бумаги в хлороформе. По внешнему виду и по прочности хорошо ацетилированная бумага не отличается от обычной. Для количественного контроля за ходом ацетилирования нами была сделана попытка изучения кинетики процесса по изменению удельного веса ацетилирующей смеси во времени. Результаты сравнительного исследования удельного веса раствора и качества бумаги приведены в табл. 1.

Из сопоставления графика рис. 1, выражающего зависимость удельного веса от времени ацетилирования с данными по исследованию бумаги, представленными в табл. 1, следует, что окончанию ацетилирования соответствует конечный, почти прямолинейный участок кривой, где удельный вес ацетилирующей смеси $d = 0,8735$ г/мл. Ацетилированная бумага, полученная по описанному методу, была применена для хроматографического разделения смесей динитрофенилгидразонов формальдегида, ацетальдегида, пропионового и масляного альдегидов и акролеина.

Нами были определены величины R_f относительного смещения этих гидразонов и установлены оптимальные условия для их разделения в системе: ацетилцеллюлоза (неподвижная фаза) — этиловый спирт (подвижная фаза). Для определения величин R_f полоса ацетилированной бумаги длиной 15—20 см подвешивалась одним концом к шлифованной крышке стеклянного цилиндра.

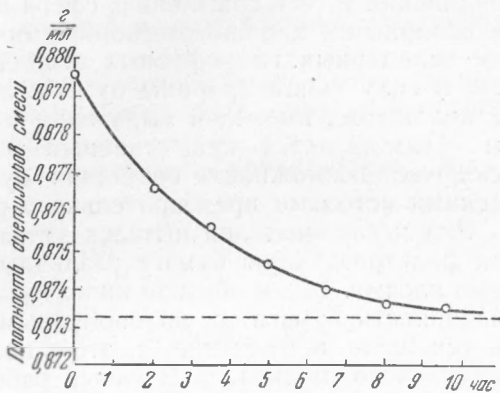


Рис. 1. Кинетика процесса ацетилирования бумаги при 60° . На оси ординат отложена плотность ацетилирующей смеси

Другой конец с нанесенным на нем пятном динитрофенилгидразона погружался в этиловый спирт, налитый на дно цилиндра. По мере передвижения спирта по бумаге пятно перемещалось с характерным для каждого альдегида значением R_f .

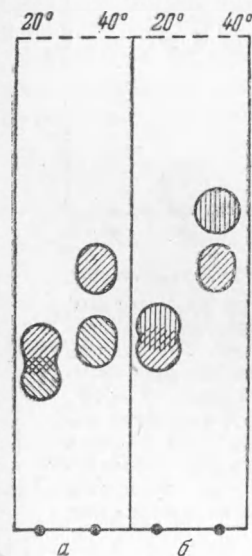
Расположение пятен гидразонов без труда определяется по их бледножелтой окраске. Увеличить видимость пятна можно, смочив хроматограмму 10% NaOH. При этом пятна гидразонов окрашиваются в яркий коричневато-красный цвет. Измерение величин R_f производилось в термостате при различных температурах. В табл. 2 дан ряд значений величин R_f , измеренных при температурах 20 и 40°.

Таблица 2.

Зависимость R_f от температуры

Динитрофенил-гидразоны	20°	40°	$x = \frac{R_{f40}}{R_{f20}}$
Формальдегид	0,31	0,38	1,23
Ацетальдегид	0,38	0,53	1,40
Пропионовый альдегид	0,40	0,65	1,62
Акролеин	0,33	0,46	1,40
Масляный альдегид	0,42	0,69	1,55

Рис. 2, представляющий копию хроматограмм, иллюстрирует результаты разделения гидразонов формальдегида и ацетальдегида, а также ацетальдегида и пропионового альдегида при различных температурах.



Из этого рисунка ясно видно, что с увеличением температуры эффективность разделения растет. Наши попытки еще более увеличить эффективность разделения за счет дальнейшего повышения температуры потерпели неудачу, так как при высоких температурах пятна значительно размывались и оставляли за собой при движении «хвосты» неразделенного вещества.

Рис. 3 представляет собой копию с хроматограмм индивидуальных веществ и смесей различных гидразонов. Все хроматограммы получены на ацетилованной бумаге элюированием соответствующих веществ 96% этиловым спиртом при 40°. Количество вещества в пятне менялось в различных опытах от 1 до 100 γ.

В наших опытах применялись разные сорта отечественной фильтровальной бумаги. Согласно нашим наблюдениям, сорт бумаги не оказывает существенного влияния на величину R_f . Нами замечено, однако, что плотные бумаги более пригодны для ацетилирования, чем крупнопористые типа «красная лента».

Разработанный метод был с успехом применен для разделения продуктов окисления пропилена. Альдегиды, содержащиеся в продуктах окисления, переводились в 2—4-динитрофенилгидразоны и затем подвергались разделению на ацетилованной бумаге, как описано выше. Копия получившейся хроматограммы изображена на рис. 4, б. Как следует из рассмотрения рисунка, смесь динитрофенилгидразонов четко разделилась

Рис. 2. Образцы распределительных хроматограмм. а — разделение динитрофенилгидразонов формальдегида и ацетальдегида при 20 и 40°; б — разделение динитрофенилгидразонов ацетальдегида и пропионового альдегида при 20 и 40°

на 3 пятна, одно из которых по своему положению отвечает производному ацетальдегида ($R_f = 0,53$), второе — производному формальдегида ($R_f = 0,38$), а третье — неизвестному соединению с $R_f = 0,02$. Идентификация производных формальдегида и ацетальдегида была также произведена путем сравнения положения пятен, полученных при раз-

делении сложной смеси, с пятнами, полученными при элюировании производных чистых альдегидов (рис. 4, а и б).

Исследование этого вещества, образующего пятно с $R_f = 0,02$, позволило установить, что это озазон глициринового альдегида.

Разработанный метод разделения альдегидов позволяет осуществить также количественный анализ смеси альдегидов. С этой целью мы наносили на несколько широких полос ацелированной бумаги смесь динитрофенилгидразонов в виде черты. После окончания разделения все полосы фильтровальной бу-

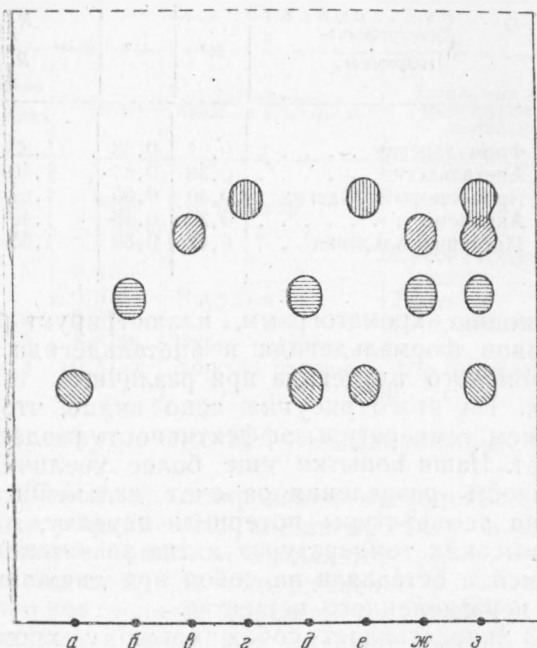


Рис. 3. Распределительная хроматограмма динитрофенилгидразонов ряда альдегидов и их смесей на ацелированной бумаге. Подвижная фаза — этиловый спирт. $T = 40^\circ$. а — формальдегид, б — ацетальдегид, в — пропионовый, г — масляный, д — смесь формальдегида с ацетальдегидом, е — смесь формальдегида с масляным альдегидом, ж — смесь ацетальдегида с пропионовым альдегидом, з — смесь формальдегида, ацетальдегида, пропионового и масляного альдегидов

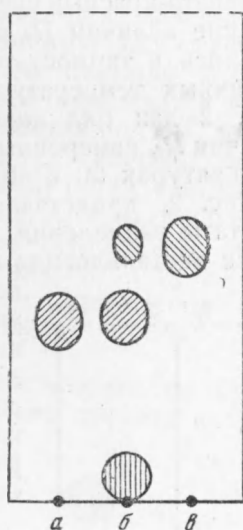


Рис. 4. Распределительная хроматограмма динитрофенилгидразонов альдегидов. Подвижная фаза — этиловый спирт. $T = 40^\circ$. а — формальдегид, в — ацетальдегид, б — смесь формальдегида, полученных из продуктов окисления пропилена

маги разрезались на куски с адсорбированными чистыми гидразонами. Из этих кусков фильтровальной бумаги бензолом экстрагировались отдельно все производные альдегидов. При экстрагировании получают продукты в смеси с частично растворяющейся в бензоле ацетилцеллюлозой. Поэтому количество отдельных динитрофенилгидразонов проще определять не весовым методом, а фотоколориметрически.

Институт химической физики
Академии наук СССР

Поступило
16 X 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. В. Рачинский, Усп. хим., 19, 445 (1950). ² Н. А. Фукс, там же, 17, 45 (1948). ³ S. P. Datta, B. G. Overell and M. Stack-Dunne, Nature, 164, 673 (1949). ⁴ J. Boldingh, Experientia, 4, 276 (1948). ⁵ J. V. Košťiř, K. Slavik, Collection Czechosl. Chem. Commun., 15, 21 (1950). ⁶ В. С. Джонсон, Р. Д. Шеннан и Р. А. Рид, Органические реактивы для органического анализа, М., 1948.