

# Kontinuierliche Papierelektrophorese von kondensierten Phosphaten

Von B. SANSONI und Prof. Dr. R. KLEMENT\*)

Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Phil.-Theol. Hochschule Regensburg

Unter optimalen Bedingungen sind mit Hilfe der kontinuierlichen Elektrophorese-Methode von Grassmann und Hannig bei kondensierten Phosphaten quantitative Trennungen und mikropräparative Umsetzungen möglich.

## Grundlagen der Methodik

Die eindimensionale Papierelektrophorese von kondensierten und polymeren Phosphat-Anionen<sup>1, 2)</sup> wurde auf die kontinuierliche Methode von Grassmann und Hannig<sup>3)</sup> (1949) ausgedehnt<sup>4)</sup>. Die in der großen Kammer (Elphor Va, ausgenutzte Trennfläche 48×32 cm, 42 Auffanggläschen) an dem senkrecht eingespannten Filtrierpapierbogen kontinuierlich aufgetragene Lösung des Phosphat-Gemisches wird durch die vertikale Puffer-Strömung senkrecht nach unten mitgeführt und unter dem Einfluß des horizontalen elektrischen Feldes gleichzeitig waagrecht elektrophoretisch aufgetrennt. Im Zusammenwirken entstehen durch vektorielle Addition beider Kräfte Phosphat-Streifen, deren Ablenkungswinkel  $\alpha$  von der Vertikalen bei sonst gleichen Versuchsbedingungen mit steigender Anionen-Beweglichkeit zunimmt. Gelangen zwei Phosphate über den gezahnten Bogenrand in verschiedene Auffanggläschen, so können sie getrennt werden.

Die eindimensionale Arbeitsweise<sup>1)</sup> erlaubt schnell und einfach qualitative Analysen mit Substanzmengen ab 1  $\gamma$  P (Elphor H, 220 Volt, Arbeitszeit 2 bis 3 h) und ist daher für Serienanalysen geeignet. Der Vorteil der hier beschriebenen kontinuierlichen Arbeitsweise liegt bei etwas komplizierterer Handhabung in einer deutlicheren qualitativen Auftrennung, einem größeren Durchlauf von Substanz zur anschließenden quantitativen Bestimmung ohne vorausgehende Elution bzw. Veraschung des Papierstreifens und in der mikro-präparativen Anwendbarkeit (Elphor Va, Whatman IV, Arbeitszeit etwa 4 h; in 24 h Durchlauf von etwa 84 mg ( $\text{NaPO}_3$ )<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O einer m/50-Lösung). Durch Verwendung wässriger Pufferlösungen im Gemisch mit organischen Lösungsmitteln können durch Überlagerung papierchromatographischer Trenneffekte in der vertikalen Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit zusätzliche Trennungseffekte gefunden werden (vgl. <sup>5, 7)</sup>).

Weitere Vorteile der Methode liegen in der Trennung einiger papierchromatographisch nicht wandernder, verschiedenartiger hochkondensierter Phosphate und der Möglichkeit zu mikro-präparativen Trennungen. Hier ergänzt die Papierelektrophorese in glücklicher Weise die sehr einfache und zuverlässige Papierchromatographie nach Ebel, Volmar und Mitarbeitern<sup>8)</sup>.

## Ermittlung optimaler Versuchsbedingungen

Nach<sup>1)</sup> wurde zunächst der  $p_H$ -Wert = 10 ausgewählt (NaOH/Na-Borat) und folgende Einflüsse untersucht: Elektrische Spannung (Feldstärke), Papiersorte (Geschwindigkeit der Puffer-Strömung), Konzentration der Phosphatlösung (Streifenbreite), vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit bei abgeschaltetem elektrischen Feld (Adsorption an der Papierfaser), Dicke des am Bogenrand nach<sup>9)</sup> eingenähten Wattestreifens (Strömung der Pufferlösung an den Elektroden) und die Reproduzierbarkeit des Ablenkungswinkels  $\alpha$ . Von den Spannungen zwischen 200 und 600 Volt sind 300 und 400 Volt (6,3 und 8,3 Volt/cm) am günstigsten. Bei höheren Spannungen wird das Papier infolge hoher Stromstärken zu stark erwärmt (hochgeladene anorganische Ionen). Die Zunahme der Spannung von 300 auf 400 Volt (also um 33%) zeigte nicht deutlich eine Zunahme der horizontalen Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit der Phosphat-Anionen um 33%. Sie schwankte stark um diesen Wert und lag für schnell wandernde Phosphat-Anionen niedriger (vielleicht infolge der in Elektrodennähe gestörten Strömungsverhältnisse).

Bild 1 zeigt die Abhängigkeit des Ablenkungswinkels  $\alpha$  der ersten (Haupt-)Komponente des Grahamschen Salzes

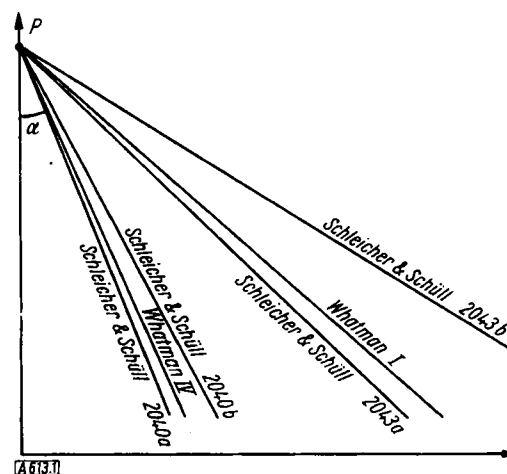


Bild 1

Abhängigkeit des Ablenkungswinkels  $\alpha$  der 1. (Haupt-)Komponente des Grahamschen Salzes von der Papiersorte, 0,5proz. wäbr. Lösung; 300 Volt;  $p_H = 10$  (NaOH/Na-Borat); P = Auftragspunkt

<sup>1)</sup> J. P. Ebel, Bull. Soc. Chim. France 20, 991, 998, 1089, 1096 [1953].

<sup>9)</sup> Nach<sup>10)</sup> c). Bei der neuesten Ausführung von Elphor Va (Bender & Hobeln, München) entfällt das Einnähen der Wattestreifen. Vermutlich ist die Reproduzierbarkeit von  $\alpha$  hier besser.

<sup>\*)</sup> 111. Mitteilung über Trennung von Phosphaten durch Papierelektrophorese. Als I. und II. Mitteilung zählen<sup>1, 2)</sup>.

<sup>1)</sup> B. Sansoni u. R. Klement, diese Zeitschr. 65, 422 [1953].

<sup>2)</sup> B. Sansoni, ebenda 65, 423 [1953].

<sup>3)</sup> a) W. Grassmann, DBP. 805 399 [1949]. b) W. Grassmann u. K. Hannig, Naturwiss. 37, 397 [1950]. c) W. Grassmann u. K. Hannig, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 292, 32 [1953].

<sup>4)</sup> Weitere uns bisher bekannte Literatur über anorganische Papierelektrophorese. Eindimensional: a) H. Kakihana, J. Chem. Soc. Japan 71, 234 [1950]. b) S. Kume, K. Ootai u. H. Watanabe, Nature [London] 166, 1076 [1950]. c) K. Kraus u. G. Smith, J. Amer. Chem. Soc. 72, 4329 [1950]. d) H. J. McDonald, M. C. Urbin u. M. B. Williamson, Science [Washington] 112, 227 [1950]; J. Amer. Chem. Soc. 73, 1893 [1951]. e) M. Lederer u. F. L. Ward, Austral. J. Sci. 13, 114 [1951]; Analyt. Chim. Acta 6, 355 [1952]. M. Lederer, Nature [London] 167, 864 [1951]. f) H. H. Strain u. J. C. Sullivan, Analytic. Chem. 23, 25, 816 [1951]. 24, 50, 356 [1952]. Kontinuierlich: g) H. H. Strain u. J. Sullivan, Analytic. Chem. 23, 816 [1951] (Kation/Kation-Trennungen). h) T. R. Sato, W. P. Norris u. H. H. Strain, Analytic. Chem. 24, 776 [1952] (Trennung von  $\text{Na}^+/\text{H}_2\text{PO}_4^-$   $\text{Ca}^{+2}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{Ag}^+/\text{CrO}_4^{+2}$ ). i) T. R. Sato, W. Kistelseski, W. Norris u. H. H. Strain, Analytic. Chem. 25, 438 [1953] (Analyt. u. mikropräparat. Trennung von  $^{45}\text{Ca}^{+2}/^{32}\text{PO}_4^{+3}$ ).

<sup>5)</sup> H. H. Strain, J. Amer. Chem. Soc. 61, 1292 [1939].

<sup>6)</sup> Anm. bei H. Grunze u. E. Thilo, S.-Ber. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin 1953, Nr. 5.

<sup>7)</sup> B. Sansoni, unveröffentl., Regensburg 1953. Derartige starke Unterschiede in der vertikalen Wanderungsgeschwindigkeit können jedoch bereits in wässriger Pufferlösung zwischen niedriger und extrem hochkondensierten Phosphat-Anionen beobachtet werden (Einfluß der Molekülgröße wird dann sehr stark). Beispiel: höchst- bzw. hochviscoses Kurroisches Salz/niedermolekulare Anionen einschließlich Grahamsches Salz (Bild 3).

von der Papiersorte. Langsam saugendes Papier (Schleicher und Schüll 2043b) bewirkt starke Ablenkung bei langer Laufzeit (etwa 8 h) und schnell saugendes Papier (Schleicher und Schüll 2040a, Whatman IV) geringere Ablenkung bei kurzer Laufzeit (etwa 3 h). Bild 2 bringt die

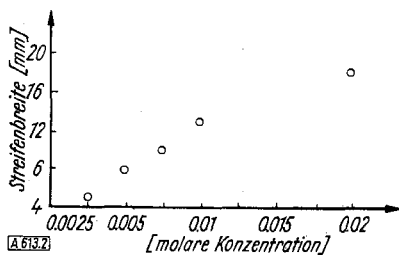


Bild 2

Abhängigkeit der Streifenbreite von  $P_3O_{10}^{-5}$  (als Phosphomolybdänblau nach<sup>9)</sup>) von der molaren Konzentration der aufgetragenen Phosphat-Lösung

Abhängigkeit der Streifenbreite von der Konzentration. Die Streifenbreite nimmt fast linear mit der Konzentration ab. Um scharfe Trennungen zu erzielen, sollte die Konzentration der einzelnen Komponenten im allgemeinen  $< 0,02$  ( $> 0,001$ )  $\frac{\text{mol}}{\text{l}}$  sein. Je geringer der Unterschied der Wanderungsgeschwindigkeiten, desto geringer soll die Konzentration gewählt werden. Bild 3 veranschaulicht die vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit für

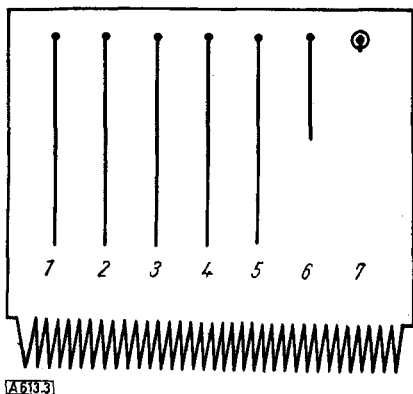


Bild 3

Vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit ohne elektrisches Feld. 1 = Bromphenolblau; 2 = Monophosphat; 3 = Diphosphat; 4 = Trimetaphosphat; 5 = Grahamsches Salz; 6 = Kurrolsches Salz hochviscos; 7 = Kurrolsches Salz höchstviscos nach<sup>10)</sup> (wechselnd)

verschiedene Phosphate bei abgeschaltetem elektrischen Feld. Sie ist für niedermolekulare Phosphate (Mono-, Di-, Tri-, Trimetaphosphat; ferner Bromphenolblau) praktisch gleich groß und etwa identisch mit der Geschwindigkeit der Puffer-Strömung. Hoch- und besonders höchstmolekulare Phosphate werden dagegen infolge ihrer Molekülgröße so stark von der Papierfaser gebremst, daß zum Teil beträchtliche Unterschiede in der vertikalen Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit bestehen. Letztere betrug beispielsweise für Kurrolsches Salz, hochviscos (in 0,5proz. Lösung etwa 3 mm lange Fäden ziehend) nur die Hälfte der Wanderungsgeschwindigkeit von Grahamschem Salz (0,9956) und war für Kurrolsches Salz, höchstviscos (in 0,12proz. Lösung etwa 40 cm lange Fäden ziehend) (nach<sup>10)</sup>) praktisch gleich Null. Diese bereits in wässriger Lösung beobachteten Unterschiede ermöglichen u. a. die Trennung derartiger hochpolymerer Phosphate untereinander.

Es ergaben sich folgende optimalen Versuchsbedingungen: 400 Volt (auch 300 Volt), Papiersorte What-

man IV oder Schleicher und Schüll 2040b, Pufferlösung NaOH/Na-Borat (1 Teil Pufferlösung nach Clark + 2 Teile  $H_2O$ ), Phosphat-Lösungen 0,02 bis 0,005 molar (mit Zusatz von Bromphenolblau als Bezugssubstanz, vgl. unten), Wattestreifen nach<sup>9)</sup> je 3 cm breit<sup>11)</sup>, Zimmertemperatur (möglichst kühl).

Bild 4 zeigt die schlechte Reproduzierbarkeit von  $\alpha$ . In 16 Versuchen ( $400 \pm 2$  Volt, Whatman IV, sonst scheinbar konstante Versuchsbedingungen) wurde Bromphenolblau als indifferenten anionischen Farbstoff den Phosphat-Lösungen zugefügt. Die mittlere Streuung der Ablenkung

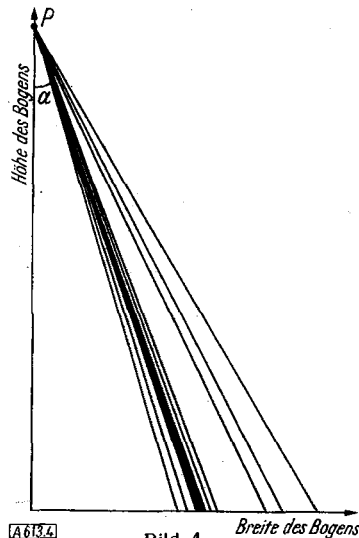


Bild 4

Reproduzierbarkeit des Ablenkungswinkels  $\alpha$ . Mittellinie des Bromphenolblau-Streifens bei 16 Versuchen ( $400 \text{ Volt} \pm 2\%$  Whatman IV; P = Auftragspunkt)

des Farbstoffstreifens beträgt 20%. In 11 Versuchen mit reiner Na-Trimetaphosphat-Lösung betrug die Streuung 9%. Es kann bei der derzeitigen Arbeitsweise nicht vorhergesagt werden, in welche Auffanggläschen die einzelnen Komponenten bei scheinbar konstanten Versuchsbedingungen gelangen. Innerhalb eines Versuches bleibt  $\alpha$  gut konstant.

Es ist notwendig,  $\alpha$  für jedes Phosphat-Anion auf den Ablenkungswinkel  $\alpha_I$  eines Bezugsanions I — hier das langsamere laufende und nicht merklich adsorbierte Bromphenolblau-Anion — zu beziehen. Ist nach Bild 5 die elektrophoretische Beweglichkeit eines Ions u, die elektrische Feldstärke im Trennraum  $\mathcal{E}$  und die vertikale Kompo-

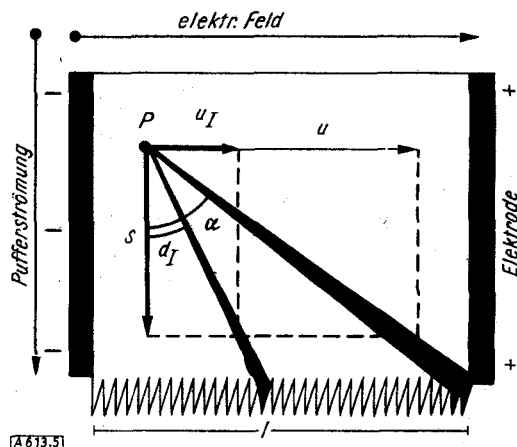


Bild 5

P = Auftragspunkt der Substanz;  $\alpha$  = Ablenkungswinkel; I = Bezugssubstanz;  $\mathcal{E}$  = elektr. Feldstärke  $= U/l$   $\left[ \frac{\text{Volt}}{\text{cm}} \right]$ ; l = Elektrodenabstand; u = elektrophoretische Beweglichkeit; s = vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit (hier  $s_I \approx s$ )

<sup>10)</sup> W. Dewald, Vortrag Anorgan. Colloquium IUPAC, Münster September 1954.

<sup>11)</sup> z. B. Fa. P. Hartmann AG., Heidenheim/Brenz, Best.-Nr. 110813.

nente der Wanderungsgeschwindigkeit (bei niedermolekularen Ionen:  $\approx$  Geschwindigkeit der Puffer-Strömung) s, so ergibt sich in erster Näherung:

$$\operatorname{tg} \alpha \approx \frac{u \cdot \mathcal{E}}{s}; \quad \alpha = \arctg \frac{u \cdot \mathcal{E}}{s};$$

und analog für das Bezugsion 1:

$$\operatorname{tg} \alpha_I = \frac{u_I \cdot \mathcal{E}}{s_I}; \quad \alpha_I = \arctg \frac{u_I \cdot \mathcal{E}}{s_I}.$$

Es gilt dann:

$$\frac{\operatorname{tg} \alpha}{\operatorname{tg} \alpha_I} = \frac{u \cdot \mathcal{E} \cdot s_I}{u_I \cdot \mathcal{E} \cdot s} = \frac{u \cdot s_I}{u_I \cdot s} = \text{konstant} = R_B.$$

Für niedermolekulare Ionen mit  $s_I \approx s$  gilt ferner:  $R_B \approx \frac{u}{u_I}$ .

( $R_B$  in Anlehnung an „ $R_F$ “-Wert und „Bezugswert“). Unter konstanten Versuchsbedingungen sollte  $R_B$  unabhängig von der elektrischen Feldstärke, dem Ort der Auftragsstelle und zumindest für niedermolekulare Ionen unabhängig von der Papiersorte sein. Wie die Beispiele in Tabelle 1 zeigen, halten sich die Streuungen um die  $R_B$ -Werte in befriedigenden Grenzen, besonders in Anbetracht der nicht streng reproduzierbaren Versuchsbedingungen (Inhomogenitäten des Feldes und der Puffer-Strömung, geringe Verschiebungen des  $p_H$ -Wertes, ungenaue Bestimmung von  $\alpha$  bei durchgebogenen Streifen).  $\alpha$  wird jeweils für die Mittellinie eines Streifens bestimmt.

Theoretisch sind zwei Ionen 1 und 2 trennbar, wenn für ihre  $R_B$ -Werte folgende Beziehung gilt:

$$R_{B_2} - R_{B_1} \geq \frac{1}{u_I \cdot \mathcal{E} \cdot t} \left( \frac{a_1}{2} + \frac{a_2}{2} + b \right); \text{ für } s_1 \approx s_2 \approx s_I$$

$a$  = Breite der Substanzstreifen am unteren Bogenrand,  $b$  = Abstand zweier Auffanggläser (Zahnbreite),  $t$  = Laufzeit.  $u_I \cdot \mathcal{E} \cdot t = c$  bedeutet den Abstand des Streifens des Bezugsions I am unteren Bogenrand von der Vertikalen durch den Auftragspunkt P, und  $\left( \frac{a_1}{2} + \frac{a_2}{2} + b \right) = d$  den minimalen Streifenabstand zwischen 1 und 2 am unteren Bogenrand, um in zwei verschiedene Auffanggläser zu gelangen. Es vereinfacht sich dann:

$$R_{B_2} - R_{B_1} \geq d \cdot c.$$

**Beispiel:** Für  $b = 1$  cm,  $a$  z. B.  $= 1,2$  cm und experimentell gefundenes  $c = 16,0$  cm sind zwei Ionen 1 und 2 noch vollständig trennbar, wenn die Differenz ihrer  $R_B$ -Werte (z. B. Tabelle 2)  $\geq \frac{0,6 + 0,6 + 1}{16,0} = 0,2$ . Der Vergleich von Tabelle 2 mit den Versuchen ergibt befriedigende Übereinstimmung.

| Substanz-Lsg.  | Versuchsbedingungen              |                              | $\operatorname{tg} \alpha$ | $R_B$ | Bemerkungen  |
|--|----------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------|--|
|  | konstant                         | variabel                     |                            |       |  |
| Grahamsches Salz (1proz.)<br>(Hauptkomponente)               | 300 V; $p_H = 10$                | Papiersorte: S & S 2040a     | 0,39                       | 1,5   | $R_B \pm f(s)$<br>(Versuchsreihe von Bild 1)   |
|  | 300 V; $p_H = 10$                | Whatman IV                   | 0,43                       | 1,5   |  |
|  | 300 V; $p_H = 10$                | S & S 2040b                  | 0,52                       | 1,5   |  |
|  | 300 V; $p_H = 10$                | S & S 2043a                  | 1,00                       | 1,6   |  |
|  | 300 V; $p_H = 10$                | Whatman I                    | 1,12                       | 1,5   |  |
|  | 300 V; $p_H = 10$                | S & S 2043b                  | 1,61                       | 1,6   |  |
| (NaPO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O<br>(50) | 400 V; $p_H = 10$<br>Whatman IV. | Spannung:                    |                            |       | $R_B \pm f(\mathcal{E})$   |
|  |                                  | 300 V                        | 0,42                       | 1,5   |  |
|  |                                  | 350 V                        | 0,48                       | 1,4   |  |
|  |                                  | 400 V                        | 0,61                       | 1,5   |  |
| (NaPO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O<br>(50) | 400 V; $p_H = 10$<br>Whatman IV. | Auftragort:                  |                            |       | $R_B \pm f(\text{Auftragort})$   |
|  |                                  | normal                       | 1,32                       | 1,5   |  |
|  |                                  | halbe Höhe                   | 1,25                       | 1,5   |  |
|  |                                  | —                            | —                          | —     |  |
| (NaPO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O<br>(50) | 400 V; $p_H = 10$<br>Whatman IV. | Pufferström. a.d. Elektroden |                            |       | $R_B \pm f(\text{Pufferströmung a.d. Elektroden})$   |
|  |                                  | Wattestreifen ml/h           |                            |       |  |
|  |                                  | Breite (cm)                  |                            |       |  |
|  |                                  | 120   3 cm                   | 0,82                       | 2,4   |  |
|  |                                  | 350   6 cm                   | 0,83                       | 2,5   |  |
|  |                                  | —                            | 0,36                       | 2,3   |  |
| (NaPO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O<br>(50) | 400 V; $p_H = 10$<br>Whatman IV. | —                            | 0,30                       | 2,3   | Reproduzierbarkeit von $\operatorname{tg} \alpha$ und $R_B$ bei scheinbar konstanten Versuchsbedingungen |
|  |                                  | —                            | 0,34                       | 2,3   |  |
|  |                                  | —                            | 0,29                       | 2,3   |  |
|  |                                  | —                            | 0,52                       | 2,3   |  |
|  |                                  | —                            | 0,50                       | 2,3   |  |
|  |                                  | —                            | 0,36                       | 2,4   |  |

Tabelle 1. Konstanz von  $\operatorname{tg} \alpha$  und  $R_B$  bei unterschiedlichen Versuchsbedingungen

## Ergebnisse

Unter den vorangehend ermittelten optimalen Versuchsbedingungen wurden zunächst reine m/50 bis m/100-Phosphat-Lösungen, dann systematisch sämtliche möglichen Zweifachtrennungen und schließlich aussichtsreiche Mehrfachtrennungen untersucht.

### 1. Reine Phosphatlösungen bei $p_H = 10$ (NaOH/Na-Borat)

Tabelle 2 zeigt die nach  $R_B = \operatorname{tg} \alpha / \operatorname{tg} \alpha_I$  ( $I$  = Bromphenolblau-Anion) berechneten  $R_B$ -Werte.  $\operatorname{Tg} \alpha$  und  $\operatorname{Tg} \alpha_I$

| Monophosphat                  | Diphosphat                                  | Triphosphat                                  | Trimetaphosphat                               | Tetrametaphosphat                             | Grahamsches Salz (Na <sub>2</sub> O/P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> = 0,9956:1) | Kurrolsches Salz, niedrigviscos               | Kurrolsches Salz, hochviscos                  | Kurrolsches Salz, höchstviscos                |
|-------------------------------|---|--|---|---|---|---|---|---|
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> | P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> | P <sub>3</sub> O <sub>10</sub> <sup>5-</sup> | (PO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> <sup>3-</sup> | (PO <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> <sup>4-</sup> | (PO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> <sup>n-</sup>                                 | (PO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> <sup>n-</sup> | (PO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> <sup>n-</sup> | (PO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> <sup>n-</sup> |
| 1,90                          | 2,17  | 1,60   | 2,35  | 2,20  | 1,55  | 1,30  | 1,37  | 1,26  |
| 1,93                          | 1,95  | 1,63   | 2,25  | 2,04  | 1,48  | 1,44  | 1,40  | *)  |
| 1,94                          | 1,81  | 1,68   | 2,46  | 1,99  | 1,50  | 1,44  |   |   |
| 1,83                          | 1,79  | 1,68   | 2,44  | 2,05  | 1,52  | 1,49  |   |   |
| 1,90                          |   | 1,66   | 2,42  | 2,05  | 1,46  | 1,47  |   |   |
| 1,90                          |   | 1,62   | 2,50  | 2,04  | 1,43  | 1,32  |   |   |
| 1,80                          |   | 1,55   | 2,45  | 1,96  | 1,38  | 1,50  |   |   |
|                               |   | 1,85   | 2,35  | 2,03  | 1,35  |   |   |   |
|                               |   | 1,70   | 2,41  |   | 1,50  |   |   |   |
|                               |   | 1,69   | 2,32  |   | 1,50  |   |   |   |
|                               |   | 1,83   | 2,37  |   | 1,53  |   |   |   |
|                               |   | 1,62   | 2,50  |   | 1,52  |   |   |   |
|                               |   | 1,80   | 2,20  |   | 1,54  |   |   |   |
|                               |   | 1,58   | 2,30  |   | 1,50  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,30  |   | 1,49  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,60  |   | 1,29  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,50  |   | 1,33  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,32  |   | 1,58  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,31  |   | 1,34  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,30  |   | 1,50  |   |   |   |
|                               |   |  | 2,25  |   |   |   |   |   |
| 1,87                          | 1,93  | 1,68   | 2,37  | 2,04  | 1,47  | 1,43  | 1,39  | 1,26  |

Tabelle 2.  $R_B$ -Werte einzelner Phosphat-Anionen

\*) (Wechselnd, infolge des Auftrags der hochviscosen Lösung durch den Filtrierpapierheber. Die neue Ausführung \*) mit Einspritzdüse wird zuverlässigere Werte liefern.)

sind Einzel- oder Trennungversuchen entnommen. Die Reproduzierbarkeit der  $R_B$ -Werte (Bild 6, s. S. 601) ist infolge der schwierig genau konstant zu haltenden Versuchsbedingungen geringer als in der Papierchromatographie. Am schnellsten wandert Trimetaphosphat ( $R_B = 2,4$ ), es folgen Tetrametaphosphat (2,0), Mono- (1,9) und Diphosphat (1,9), Triphosphat (1,7), dann Grahamsches Salz (1,5) und Kurrolsches Salz, niedrigviscos (1,4 bis 1,5), schließlich Kurrolsches Salz, höchstviscos (1,26)<sup>10</sup>). Höhermolekulare Phosphat-Anionen verhalten sich papierelektrophoretisch etwas günstiger als einige niedermolekulare Phosphat-Anionen. So liefert Diphosphat stets breitere Streifen, die vielleicht auf das Vorliegen zweier Ionisationsstufen nebeneinander hindeuten. Grahamsches Salz („reinst“<sup>12</sup>) mit unterschied-

<sup>12</sup>) Arsen-frei, freundlicherweise von Dr. W. Dewald überlassen.

licher Darstellung und Zusammensetzung (aus  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  oder  $(\text{NaPO}_3)_3$ ;  $\text{Na}_2\text{O}/\text{P}_2\text{O}_5 = 0,9878:1$  bis  $1,0146:1$ ) spaltet stets in eine Haupt- und drei schwache Nebenkomponten ( $< \text{etwa } 1\%$  bis  $5\%$ ) auf<sup>13)</sup>). Durch Zusatz verschiedener reiner Phosphat-Lösungen wurden letztere eindeutig als Trimeta-, Tetrameta- und wahrscheinlich als Triphosphat identifiziert<sup>14)</sup>. Die untersuchten Poly-phosphatgläser (1,400:1 und 1,250:1) enthalten ebenfalls Trimetaphosphat. Derartige geringe Verunreinigungen

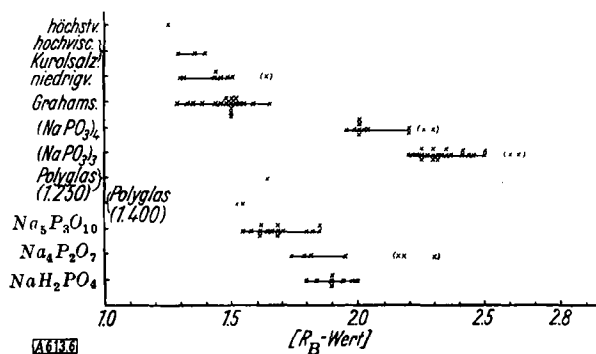


Bild 6  
R<sub>B</sub>-Werte einzelner Phosphat-Anionen und ihre Streuung

wird man vielleicht gelegentlich bei der Bestimmung des Kondensationsgrades von Polyphosphaten durch Titration der schwach sauren Endgruppen nach O. Samuelson<sup>15)</sup> diskutieren müssen. Im Vergleich zu den einfach gebauten niedermolekularen Anionen liefern höher- und besonders höchstmolekulare Anionen bemerkenswert einheitliche und schmale Streifen: Kurrolsches Salz niedrigviscos (keinerlei Verunreinigungen), Kurrolsches Salz hochviscos (in 0,5% wässriger Lösung 3 mm lange Fäden ziehend) (nur höherer Gehalt an Monophosphat) und besonders Kurrolsches Salz höchstviscos<sup>10)</sup> (zieht in 0,12% wässriger Lö-

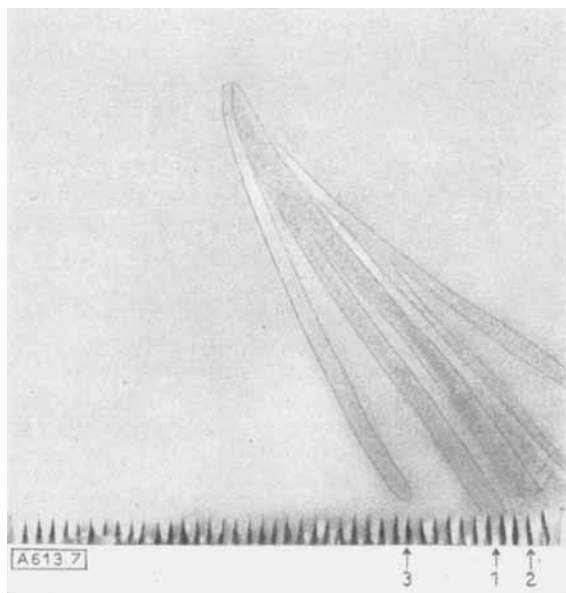


Bild 7  
Trennung Polyphosphatglas (1,400)/Grahamsches Salz (0,9956) (Versuch 113). 1 = Hauptkomponente Grahamsches Salz; 2 = Hauptkomponente Polyphosphatglas; 3 = Bromphenolblau

<sup>13)</sup> Vorläufige Mitteilung. Diskussionsbemerkung Chemiedozenten-Tagung 1954 Erlangen. Ferner unveröffentl. papierchromatograph. Untersuchungen 1952/3.

<sup>14)</sup> Dieser Befund deckt sich mit H. Grunze u. E. Thilo, S.-Ber. Dtsch. Akad. Wiss. Berlin, 1953, Nr. 5 (papierchromatographisch).

<sup>15)</sup> O. Samuelson, Svensk Kem. Tidskrift 56, 343 [1944].

sung etwa 40 cm lange Fäden) (außer dem als Lösungsvermittler zugesetzten 0,38% Diphosphat praktisch keinerlei Verunreinigungen). Hier waren wie auch schon bei der

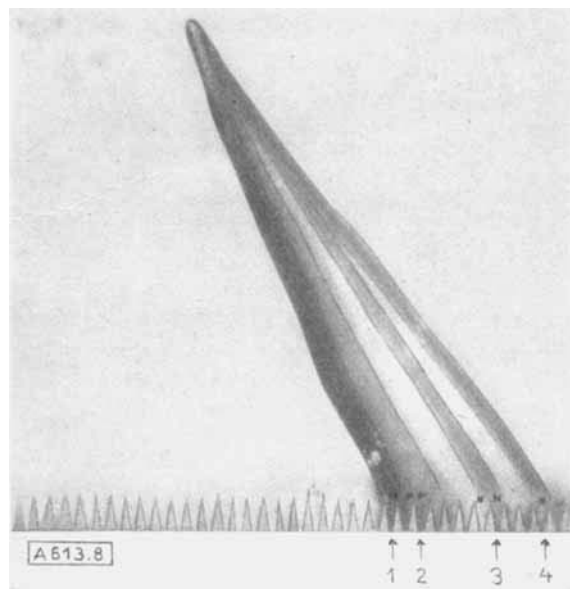


Bild 8  
Grahamsches Salz (Versuch Nr. 17). 1 = Hauptkomponente Grahamsches Salz; 2 = wahrscheinlich Triphosphat (vielleicht einschließlich höherer Homologer); 3 = Tetrametaphosphat; 4 = Trimetaphosphat

Hauptkomponente von Grahamschem Salz bei einer breiten statistischen Verteilung des Kondensationsgrades ursprünglich breitere Streifen erwartet worden. Papierelektrophoretisch unterscheiden sich bei  $p_H = 10$  nicht merklich: Kurrolsches Salz niedrigviscos/Grahamsches Salz, Hauptkomponente; Polyphosphatglas (1,250)/Grahamsches Salz; Kurrolsches Salz hochviscos/Grahamsches Salz. Dagegen verhalten sich Kurrolsches Salz höchstviscos/Grahamsches Salz und Polyphosphatglas (1,400)/Grahamsches Salz sowie z. B. Kurrolsches Salz/Diphosphat/Hühner-eiweiß noch so verschieden, daß sie praktisch vollständig getrennt werden können.

## 2. Zweifachtrennungen bei $p_H = 10$ (NaOH/Na-Borat)

Sehr gute, quantitative Trennungen:

- $\frac{m}{50}$ -Monophosphat/ $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat
- $\frac{m}{50}$ -Monophosphat/0,5 %-Grahamsches Salz (0,9956)
- $\frac{m}{50}$ -Monophosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos
- $\frac{m}{50}$ -Monophosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos
- $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/ $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat
- $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/0,5 %-Grahamsches Salz (0,9956)
- $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos
- $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos
- $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz höchstviscos
- $\frac{m}{100}$ -Triphosphat/ $\frac{m}{100}$ -Trimetaphosphat
- $\frac{m}{100}$ -Triphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos
- $\frac{m}{100}$ -Triphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos
- $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat/0,5 %-Grahamsches Salz (0,9956)
- $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos
- $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos
- 0,5 %-Polyphosphatglas (1,400)/0,5 %-Grahamsches Salz (0,9956) (Bild 7).

Fast vollständige Trennung:

$\frac{m}{50}$ -Monophosphat/ $\frac{m}{50}$ -Triphosphat  
 $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/ $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat  
 $\frac{m}{50}$ -Triphosphat/0,5 %-Grahamsches Salz.

Keine bzw. ungenügende Trennung:

$\frac{m}{50}$ -Monophosphat/ $\frac{m}{50}$ -Diphosphat  
 $\frac{m}{100}$ -Diphosphat/ $\frac{m}{100}$ -Triphosphat  
 $\frac{m}{50}$ -Diphosphat/ $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat

0,3 %-Polyphosphatglas (1,250)/0,4 %-Grahamsches Salz (0,9956)  
 0,5 %-Grahamsches Salz/0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos  
 0,5 %-Grahamsches Salz/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos  
 0,5 %-Kurrolsches Salz niedrigviscos/0,5 %-Kurrolsches Salz hochviscos.

Beispiele für Mehrfachtrennungen bei  $p_H = 10$ .

Quantitative Trennung:

Monophosphat/Triphosphat/Kurrolsches Salz hochviscos  
 Monophosphat/Trimetaphosphat/Grahamsches Salz (0,9956)/Kurrolsches Salz höchstviscos<sup>10)</sup>  
 Diphosphat/Kurrolsches Salz/Hühnereiweiß  
 Triphosphat/Trimetaphosphat/Tetrametaphosphat/Grahamsches Salz, Hauptkomponente (entspricht dem „Grahamschen Salz“, Bild 8) (Triphosphat/Hauptkomponente Grahamsches Salz nur fast quantitativ).

Die Trennung von höhermolekularen Phosphat-Anionen untereinander gelingt auch nach dem eindimensionalen Verfahren<sup>16)</sup> wie Bild 9 am Beispiel Kurrolsches Salz/Grahamsches Salz/Trimetaphosphat zeigt.

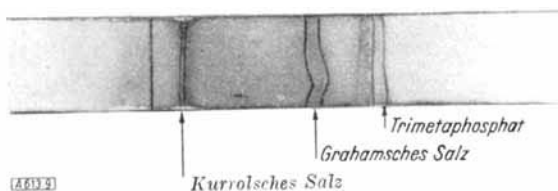


Bild 9

Eindimensionale Trennung Kurrolsches Salz höchstviscos nach<sup>10)</sup>/Grahamsches Salz, Hauptkomponente/Trimetaphosphat

Einige bei  $p_H = 10$  nicht trennbare Kombinationen werden bei anderen  $p_H$ -Werten, z. B. sehr günstig  $p_H = 8$  (HCl/Veronal-Na) getrennt, vgl.<sup>16)</sup>.

<sup>16)</sup> B. Sansoni u. R. Klement, diese Ztschr. 65, 422 [1953].

### 3. Mikro-präparative Trennungsmöglichkeit

Sie besteht für sämtliche analytisch trennbaren Kombinationen. U. a. ergibt die Trennung Grahamsches Salz, Hauptkomponente/ $\frac{m}{50}$ -Trimetaphosphat auf Papier Whatman IV bei 400 Volt in 24 h einen Durchlauf von etwa 100 mg Grahamschem Salz und 85 mg Trimetaphosphat. Die mit Seesand gefüllte Apparatur nach<sup>17)</sup> ermöglicht einen Durchlauf von 1g und mehr Substanz. Die präparative Abtrennung niedermolekularer Verunreinigungen von z. B. Grahamschem Salz ist durch den Siebeffekt<sup>18)</sup> an einem Anionenaustauscher (Amberlite IRA 400) möglich<sup>19)</sup>. Dagegen gelingt die Trennung einiger hochmolekularer Phosphate untereinander unseres Wissens erstmals mit Hilfe der Papierelektrophorese.

Das kontinuierliche Verfahren kann auch zur mikro-präparativen Darstellung von Salzen dienen. Das in der Pufferlösung dissoziierte Salz (z. B.  $xNa^+ +$  Anionen des Grahamschen Salzes  $x$ ) wird quantitativ in die zur Anode wandernden Kationen und die zur Kathode wandernden Anionen getrennt. Aus Gründen der Elektroneutralität werden dabei im Anionen-Streifen die ursprünglichen Kationen (z. B.  $Na^+$ ) durch die Kationen der Pufferlösung (bei entspr. Pufferlösung  $K^+$ ,  $NH_4^+$  usw.) ersetzt. Da es sich um sehr milde Trennungsbedingungen handelt, werden nur die in Lösung frei abdissoziierten Kationen ausgetauscht. Bei dieser präparativen Anwendung kommt es nicht auf feinere Trenneffekte an. Daher ist die Anwendungsmöglichkeit des neuen Verfahrens bei Verwendung von allgemeineren Elektrolytlösungen nicht nur auf die Darstellung von Alkali-Salzen beschränkt.

Schließlich ist es möglich, bei geeigneter elektrophoretischer Ablenkung und Auftragsstelle die Streifen zweier zu untersuchender Ionenarten sich innerhalb der Elektrophoresekammer überkreuzen zu lassen. Aus einer Bahnablenkung bzw. unveränderten Bahnen kann man auf das Eintreten bzw. Ausbleiben von Reaktionen schließen<sup>20)</sup>.

Cand. chem. E. Stumpp und R. Strasser, Regensburg, dankt der eine von uns (B. S.) vielmals für experimentelle Mitarbeit und Prof. Dr. W. Grassmann und Dr. K. Hannig, Max-Planck-Institut für Eiweiß und Leder, Regensburg, für Diskussion.

Er dankt ferner Dr. W. Dewald, Chemische Werke Albert, Wiesbaden, vielmals für die Überlassung einer größeren Anzahl von Phosphaten sowie Diskussion und den Chemischen Werken Albert, Wiesbaden, danken wir für materielle Unterstützung der Arbeiten bestens.

Eingeg. am 18. August 1954 [A 613]

<sup>17)</sup> W. Grassmann u. K. Hannig, Naturwiss. 37, 397 [1950].

<sup>18)</sup> O. Samuelson: Ion Exchangers in Analytical Chemistry; New York u. Stockholm 1952.

<sup>19)</sup> B. Sansoni, Unveröffentl. Versuche 1952.

<sup>20)</sup> W. Grassmann u. R. Hübner, Naturwiss. 40, 272 [1953].