

das verbleibende Oxim durch Destillation im Vakuum gereinigt. Es wurden 1,5 g des 2³-Oximino-2-butyl-furans, Sdp. _{120 mm} 136—137° als farbloses Öl erhalten.

8 g 2³-Oximino-2-butyl-furan wurden in 100 cm³ absolutem Alkohol gelöst und zu der auf dem Sandbad zum Sieden erhitzten Lösung 30 g blankes Natrium gegeben. Nachdem die starke erste Reaktion etwas nachgelassen hatte, wurden noch in Abständen von 5 Minuten je 50 cm³ Alkohol hinzugefügt, bis alles in Lösung gegangen war. Diese Lösung, sorgfältig mit Eis gekühlt und mit 4-n. Schwefelsäure angesäuert, wurde im Vakuum vom Alkohol befreit. Die verbleibende wässrige Lösung wurde unter Kühlung mit festem Kaliumhydroxyd gesättigt und die als Öl sich abscheidende Base sofort mit Äther aufgenommen. Nach dem Trocknen und Verjagen des Äthers verblieben 4,5 g 2³-Amino-2-butyl-furan. Die Destillation, Sdp. _{90 mm} 79°, ergab eine farblose Flüssigkeit. Das Hydrochlorid der Base lässt sich aus der Lösung in Äther mit trockenem Chlorwasserstoff in Form von Nadeln ausscheiden.

10,00 cm³ einer Lösung des salzauren Salzes erhalten durch Auflösen von 0,1017 g Subst. zu 50 cm³ Lösung — verbrauchten bei der potentiometrischen Titration 1,16 cm³ 0,1-n. AgNO₃-Lösung: C₈H₁₄ONCl Mol.-Gew. Ber. 175,66 Gef. 175,34.

Wir möchten auch an dieser Stelle dem Kuratorium der *Ciba*- und *J. Brodbeck-Sandreuter*-Stiftung für die Unterstützung der Untersuchungen unseren verbindlichsten Dank sagen.

Basel, Anstalt für anorganische Chemie.

139. Zur Kenntnis der chromatographischen Methode in der anorganischen Chemie. III.

Versuche zur quantitativen Bestimmung von Kalium- und Natrium-ionen

von H. Erlenmeyer und J. Schmidlin.

(15. IX. 41.)

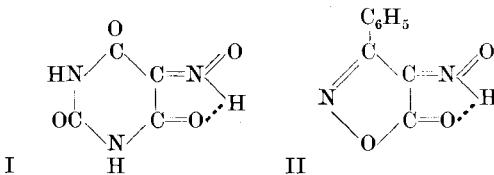
In einer früheren Mitteilung¹⁾ berichteten wir über die Möglichkeit, mit Hilfe von Violursäure qualitative chromatographische Analysen von Salzgemischen, insbesondere auch von Alkali- und Erdalkalisalzen durchzuführen. Eine solche Trennungsmethode würde ein allgemeineres Interesse besitzen, wenn es mit ihr möglich wird, K⁺- und Na⁺-Bestimmungen nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ und besonders im mikrochemischen Maßstabe durchzuführen. Für die Biologie wertvoll wäre speziell eine einfache Bestimmungsmöglichkeit des in den verschiedenen Organen vorhandenen K⁺ und

¹⁾ Helv. 24, 878 (1941).

Na⁻; da nach neueren Ergebnissen das Konzentrationsverhältnis dieser Ionen zu lebenswichtigen Vorgängen in direkter Beziehung steht. Wir beschreiben im Folgenden eine erste Reihe von Versuchen, die zur Ausarbeitung eines solchen chromatographischen Analysenverfahrens unternommen wurden.

Zuerst wurden im Anschluss an unsere bisherigen Versuche zur weiteren Orientierung noch qualitative Trennungen untersucht, bei denen sich zeigte, dass von den verschiedenen Verdünnungsmitteln für die Violursäure Stärke bzw. Kieselgur die deutlichsten Zonen ergeben.

Von anderen Verbindungen mit der wirksamen Gruppe $-\text{CO}\cdot\text{C}(:\text{NOH})-$ ¹) haben wir sodann neben Violursäure (I) noch 5-Oxo-4-oximino-3-phenyl-isoxazolin (II) in den Kreis der Untersuchungen einbezogen²).



Die qualitative Prüfung ergab, dass mit einem Gemisch von Stärke und diesem Isoxazolon-Derivat (2:1) als Adsorptionsmittel mit 0,5-n. Kaliumacetatlösung eine scharfe gelbe Zone und mit 0,5-n. Natriumacetatlösung eine rötliche Zone erhalten wird. Die Na⁻-Zone wandert beim Waschen mit Wasser leicht abwärts und verschwindet dabei aus der Säule. Ein Gemisch der Lösungen (d. i. 0,25-n. Kaliumacetat und 0,25-n. Natriumacetat) ergibt eine obere gelbe K⁻-Zone und darunter eine rötliche Na⁻-Zone. Beim Waschen mit Wasser erwies sich die gelbe K⁻-Zone als sesshaft, während die rötliche Na⁻-Zone schnell ausgewaschen wurde. Aus den Versuchen ersieht man, dass K⁻ an 5-Oxo-4-oximino-3-phenyl-isoxazolin eine sehr fest haftende gelbe Zone gibt, während die rötliche Zone des Na⁻ sich durch Waschen schnell entfernen lässt.

Diese Beobachtung führte uns dazu, K⁻- und Na⁻-Trennungen mit Hilfe von zusammengesetzten Säulen zu versuchen. Eine solche zusammengesetzte Säule wurde unter Verwendung von einem Gemisch aus 5-Oxo-4-oximino-3-phenyl-isoxazolin-Stärke im oberen Teil und — davon getrennt — aus Violursäure-Stärke im unteren Teil als Adsorptionsmittel aufgebaut.

Die zur Herstellung der chromatographischen Säulen benutzten Glasrohre hatten eine Länge von 5 cm und eine Weite von 2,5 mm. Die Röhrchen müssen, um scharfe

¹⁾ Die Oximino-Gruppe vermutlich in einer tautomeren Form, wie in der Ni⁺⁺-spezifischen Gruppe, siehe H. Erlenmeyer und H. Ueberwasser, Helv. **23**, 197 (1940).

²⁾ Darstellung siehe L. Claisen und W. Zedel, B. **24**, 140 (1891).

Zonen ohne Lappen zu erhalten, gut gereinigt werden. Man verschliesst zuerst das untere Ende des Rohres mit Watte, die auf ebener Unterlage mit einem Stab festgestampft wird. Das untere Adsorptionsgemisch aus Violursäure und Stärke wird sodann mittelst eines Trichters in kleinen Portionen eingetragen und jeweils festgestampft. Nach der Reinigung des Halses wird eine Zwischenschicht aus Watte ($\frac{1}{2}$ —1 mm) aufgebracht und anschliessend das obere Gemisch aus 5-Oxo-4-oximino-3-phenyl-isoxazolin-Stärke eingefüllt. Das obere Ende des Rohres wird wieder mit einer 1 mm dicken festgestampften Watteschicht verschlossen.

In Versuchen mit solchen Röhrchen erhält man z. B. bei Verwendung von 2 Tropfen einer Lösung (0,5-n. Natriumacetat und 0,5-n. Kaliumacetat) im oberen Teil des Rohres eine scharfe gelbe K-Zone, während die zu Beginn angedeutete Na-Zone beim Waschen in den unteren Teil wandert und dabei in der Violursäureschicht eine deutliche haftende rote Na-Zone herausbildet.

Es zeigte sich bei entsprechenden Versuchen mit einer Verdünnungsreihe, dass noch 0,03-n. Kaliumacetat-Natriumacetatlösungen deutliche scharfe Zonen ergeben.

Anschliessend wurden nun mit derartig zusammengesetzten Säulen auch Versuche zur quantitativen Bestimmung¹⁾ von Kalium- und Natrium-ion ausgeführt²⁾.

Zuerst galt es zu ermitteln, in welchem Zeitpunkt eine definierte, für derartige Messungen verwendbare Zonenlänge vorliegt. Es ändert sich die Länge der Zonen beim Auswaschen, indem zu Beginn eine schnelle Verlängerung bis zu einem Maximum erfolgt. Dieses nimmt alsdann bei fortgesetztem Auswaschen wieder ab. Figur 1 zeigt das Verhalten einer solchen mit 0,1 cm³ einer 0,5-n. Kaliumacetatlösung erzeugten K-Zone. Durch Vakuum wird der Waschvorgang beschleunigt. Das Maximum der Zonenlängen in Millimetern lässt sich auf diese Weise leicht ermitteln.

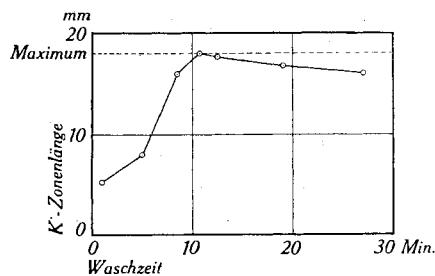


Fig. 1.

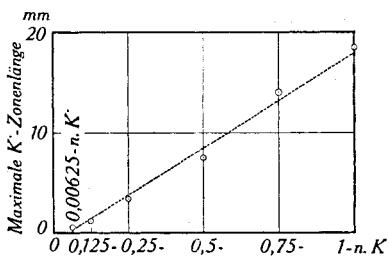


Fig. 2.

Für eine quantitative Verwendung der Versuche ist sodann unumgängliche Voraussetzung, dass eine eindeutige Abhängigkeit der

¹⁾ Über quantitative anorganische Chromatographie siehe G. M. Schwab, Z. angew. Ch. **52**, 666 (1939) und **53**, 39 (1940).

²⁾ Wir beschränkten uns bei diesen ersten Versuchen auf die Acetate des Kalium und Natrium.

Zonenlänge von der Menge des aufgebrachten K⁺ bzw. Na⁺ besteht. Die experimentelle Prüfung dieser Abhängigkeit an K⁺-Zonen bei Verwendung von 0,1 cm³ von jeder Konzentration zeigt Tabelle 1 und Figur 2 (Mittelwerte).

Tabelle 1.

K ⁺ -Konz.	Zonenlänge in mm		
	1. Versuch	2. Versuch	Mittel
n.	18,4	18,6	18,5
0,75-n.	14,0	—	14,0
0,5-n.	7,6	7,4	7,5
0,25-n.	3,4	3,4	3,4
0,125-n.	1,2	1,3	1,2
0,0625-n.	0,5	0,5	0,5

Die Forderung nach einer eindeutigen Beziehung zwischen Zonenlänge und Menge des Kaliumions ist, wie die Versuche zeigen, befriedigend erfüllt¹⁾. Nach einer Abklärung dieser Voraussetzungen wurden die weiteren Versuche sogleich mit Lösungen vorgenommen, die K⁺ und Na⁺ in dem im normalen Blutserum vorhandenen Konzentrationsverhältnis von 20 mg-Proz. K⁺ und 345 mg-Proz. Na⁺ enthalten.

Für die Ermittlung von sehr geringen Mengen wurde es notwendig, noch engere Glasröhrchen für die Herstellung der Säulen zu benutzen. Zuerst arbeiteten wir mit Schmelzpunkttröhrchen mit einem definierten Durchmesser von 1,5 mm. Die Füllung wurde entsprechend sorgfältig vorgenommen. In Vorversuchen wurde mit solchen Röhrchen ermittelt, dass noch 0,02-n. Lösungen von Kaliumacetat deutlich sichtbare Zonen ergeben.

Für die quantitativen Versuche wurde eine Stammlösung verwandt, die in 1 cm³ 17,25 mg Na⁺ und 1 mg K⁺ enthält, d. h. Mengen, wie sie normalerweise in 5 cm³ Serum enthalten sind.

Für eine Bestimmung wurden 0,1 cm³ dieser oder einer entsprechend verdünnten Lösung mit einer Mikropipette auf das chromatographische Röhrchen gebracht. Nach vollständigem Eindringen der Lösung in die Säule wird mit Wasser nachgewaschen. Die Werte der erhaltenen maximalen Zonenlängen für Na⁺ zeigt Tabelle 2 und Figur 3, in der die Konzentrationsangaben der Abszisse auf die Stammlösung mit 17,25 mg Na⁺ in 1 cm³ = 100 bezogen sind.

¹⁾ Wir beschränkten uns bei diesen ersten Versuchen auf die Acetate des Kalium und Natrium.

Tabelle 2.

Na ⁺ -Konz.	Zonenlängen in mm			
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	Mittel
100	25,5	26,0	24,5	25,3
90	22,5	22,3	23,5	22,8
80	20,0	20,5		20,3
60	16,3	16,0		16,2

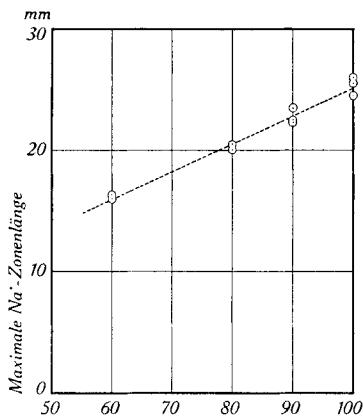


Fig. 3.

Nach diesen Versuchen erlaubt die Methode, Na⁺-Bestimmungen in diesen kleinen Mengen und Konzentrationen mit einer Genauigkeit von ca. 5 % durchzuführen. Die Zeit, bis Lösung und genügend Waschwasser durch die Säule geführt sind, beträgt bei diesen engen Röhrchen allerdings 1—2 Tage.

Schwieriger gestaltet sich eine gleichzeitige K⁺-Bestimmung hierbei. Die im oberen Teil der zusammengesetzten Säule sich herausbildende gelbe K⁺-Zone ist in diesen Versuchen zu kurz, um quantitative Unterschiede mit der gewünschten Genauigkeit zu erfassen. Erst höhere Absolutkonzentrationen an K⁺ ergeben brauchbare Werte. Eine andere Möglichkeit bestand in der Anwendung noch engerer Glasröhrchen, wodurch sich eine Verlängerung der Zonenlänge erreichen lässt. Der folgende Versuch gibt die mit 10 cm langen Rohren von 1,2 mm lichter Weite — gefüllt mit 6,6 cm einer Säule aus Violursäure-Stärke (1:3) und 1,6 cm einer Säule aus 5-Oxo-4-oximino-3-phenyl-isoxazolin-Stärke (1:1) — erhaltenen Ergebnisse wieder. Die K⁺-Zonen im oberen Teil zeigen nach 2 Tagen ihre maximale Länge. Bei Verwendung verschiedener Konzentrationen ergibt sich Figur 4, in der die Konzentrationsangaben der Abszisse auf die

Stammlösung mit 1 mg K⁺ in 1 cm³ = 100 und 17,25 mg Na⁺ in 1 cm³ = 100 bezogen sind.

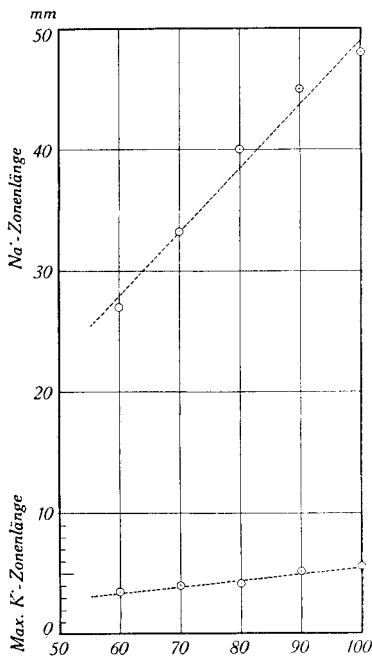


Fig. 4.

Die Na⁺-Zonen erreichen auch bei 10-tägigem Waschen bei Verwendung derartig enger Röhrchen noch nicht ihre maximale Länge. Der angegebene Versuch wurde daher vorzeitig abgebrochen, wobei die zu diesem Zeitpunkt erreichten Zonenlängen (keine Maxima) in Figur 4 wiedergegeben werden.

Diese ersten Versuche zeigen, dass die chromatographischen Bestimmungen von K⁺ und Na⁺ im gleichen Röhrchen, wenn die Konzentrationsverhältnisse 1:17,25 betragen, nicht einfach durchzuführen sind. In getrennten Röhrchen mit verschiedener Weite kommt man jedoch zu vergleichbaren Werten. Erst weitere Versuche müssen zeigen, ob durch Variation der Adsorptionsmittel oder der Versuchsanordnung die Ergebnisse genauer und besonders schneller zu erhalten sind.

Basel, Anstalt für anorganische Chemie.