

ein 12 cm breites Papier wurde auf der Mitte der Startlinie das zu prüfende Zuckergemisch (höchstens 20 γ pro Zucker) aufgetragen und rechts und links davon im Abstand von 3,0 cm ein Gemisch von je 20 γ der sieben Zucker. Nach 24 Std. Entwicklung im System 3 wurde das Pchr ca. 1 Std. bei 70° getrocknet, dann der Mittelstreifen mit dem Testgemisch herausgeschnitten und die beiden Randstreifen mit Perjodat-KMnO₄-Reagens besprüht. Die mit Hilfe der Randstreifen bestimmte Zone der Hexosen im Mittelstreifen wurde durch PARTRIDGE-Reagens¹⁸⁾ + 6% sirupöse Phosphorsäure durchgezogen¹⁸⁾, ca. 3–5 min bei 110° unter Kontrolle getrocknet, bis Glucose, Galaktose und Fructose im UV.-Licht als fluoreszierende Flecke feststellbar waren. Die Zone der Disaccharide wurde ausgeschnitten und viermal mit je 1,5 ml Me-W-(1:1) eluiert. Die vereinigten Eluate wurden im Vakuum zur Trockne eingedampft und zur vollständigen Entfernung des Dmf noch einmal 30 min bei 60° im Hochvakuum getrocknet. Der getrocknete Zuckerrückstand (mit maximal 20 γ Trehalose) wurde in 0,08 ml 0,1 M Acetatpuffer (pH 5,5) gelöst, mit 0,02 ml Trehalaselösung versetzt und 8–12 Std. bei 37° fermentiert. Danach wurde das fünffache Volumen Alk zugegeben, leicht erwärmt, das ausgefällte Ferment abfiltriert und mit wenig Alk nachgewaschen. Die Alkohollösung wurde eingeeengt, quantitativ auf ein zweites Pchr übertragen und analog wie oben beschrieben chromatographiert. Das Vorhandensein von Glucose (aus Trehalose), Maltose, Lactose und Saccharose wurde dann wie oben beschrieben festgestellt.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine Methode zum Nachweis von je 0,5 γ Glucose und Galaktose, je 1 γ Fructose, Maltose, Lactose und Saccharose und 2 γ Trehalose in einem Gemisch dieser sieben Zucker beschrieben.

Schweizerisches Tropeninstitut, Basel, und
Organisch-chemische Anstalt der Universität Basel

¹⁸⁾ Das Gemisch wurde vor Gebrauch jeweils frisch hergestellt.

130. Radiometrische Mikromethode zur quantitativen Bestimmung von Metall-Ionen

von Ernst Schumacher und Walter Friedli

(14. IV. 1960)

Grundlagen

1. Wir berichten über eine analytische Methode für $< \mu\text{g}$ -Mengen von Metallen, die von der folgenden Überlegung ausgeht: Das zu analysierende Metall-Ion M, Konzentration $[M]_t$, wird mit einer «gewichtlosen» Menge M* eines radioaktiven Isotops versetzt. Dann gibt man einen Liganden L zu, wobei $[L]_t < [M]_t$. Damit wird M teilweise in den Komplex ML überführt, der vom überschüssigen M unter bestimmten Bedingungen abgetrennt werden kann. Bei bekannter Konzentration $[L]_t$ und Stöchiometrie der Komplexbildung wird $[M]_t$ aus den folgenden Beziehungen erhalten:

Das unter identischen geometrischen Bedingungen gemessene Radioaktivitätsverhältnis

$$Q \equiv [M]/[ML] \quad (1)$$

ergibt mit der Materieerhaltung

$$[\text{M}]_t = [\text{M}] + [\text{ML}] \quad (2)$$

und der Messvoraussetzung

$$[\text{ML}] = [\text{L}]_t \quad (3)$$

$$[\text{M}]_t = [\text{L}]_t (1 + Q) \quad (4)$$

2. Die Messvoraussetzung ist nur zu erfüllen, wenn eine 1:1-Stöchiometrie von M und L vorliegt und die Stabilitätskonstante des ML-Komplexes je nach $[\text{M}]_t$ eine bestimmte Grösse überschreitet, die man der Gleichung (5) entnehmen kann. Daraus folgt, dass nur multidentate Chelatkomplexbildner für die Methode in Frage kommen, z. B. Aminopolycarbonsäuren.

Der systematische Fehler F_K , der durch die nicht beliebig grosse Stabilitätskonstante K_{ML} bei der Voraussetzung (3) entsteht, beträgt dann

$$F_K = \frac{\alpha_{\text{H}}}{\alpha_{\text{H}} + [\text{M}]_t K_{\text{ML}} \frac{Q}{1+Q}} \quad \text{stets} > 0 \quad (5)$$

$\alpha_{\text{H}} \equiv \sum_0^n [\text{H}]^i \prod_0^i K$; $K_0 \equiv 1$ Protonierungsfunktion des n -protonigen Liganden L

K_1 Protonierungskonstanten
 $[\text{H}]$ Oxoniumkonzentration

3. Die Trennung von M und ML zur gesonderten Radioaktivitätsbestimmung stört das Komplexbildungsgleichgewicht. Unter der Voraussetzung, dass dabei der im Gleichgewicht vorhandene überschüssige Komplexbildner zusammen mit dem Komplex vollständig abgetrennt wird, gilt:

$$\beta = \frac{[\text{M}]_z}{[\text{M}]_t} = + \left(\frac{\alpha_{\text{H}}}{[\text{M}]_t K_{\text{ML}} (1+Q)} \right)^{1/2}, \quad \text{falls } [\text{M}]_z \ll [\text{M}]_t, \quad (6)$$

$[\text{M}]_z$: die durch Komplexzerfall entstehende zusätzliche $[\text{M}]$.

Stellt sich während der Trennoperation das Komplexbildungsgleichgewicht laufend ein, so erhält man für einen einmaligen Trennschnitt einen systematischen Fehler

$$F_z = \beta (1 + Q) = + \left(\frac{\alpha_{\text{H}} (1+Q)}{[\text{M}]_t K_{\text{ML}}} \right)^{1/2} \quad (7)$$

Dies trifft z. B. für eine Fällungsreaktion oder eine einmalige Extraktion von M oder ML zu. Bei einem multiplen Trennverfahren mit nur partieller Trennung pro Einzelschnitt führt der Komplexzerfall u. U. zu einer unvollständigen Trennung, die eine Auswertung erschwert oder verunmöglicht. Die Anwendung derartiger Trennmethode setzt voraus, dass ML inert ist. Die Halbwertszeit des Komplexzerfalls im Trennmilieu sollte mindestens von der Grössenordnung der totalen Trennzeit sein¹⁾. Dann wirkt sich der Komplexzerfall auf das Resultat nicht aus.

4. Bei den interessierenden Konzentrationen $[\text{M}]_t < 10^{-5}$ Mol/l sind Fällungsreaktionen nicht brauchbar, da natürlich ein Träger nur zugegeben werden dürfte, wenn er keine Reaktion mit dem Liganden eingeht. Dies trifft sehr selten zu. Andere

¹⁾ ROY A. KELLER & J. CALVIN GIDDINGS, J. Chromatography 3, 205 (1960); vgl. auch J. KALLEN & E. HEILBRONNER, Helv. 43, 489 (1960), sowie H. JÄGER, A. RAMEL & O. SCHINDLER, Helv. 40, 1310 (1957).

Einzelstufenprozesse, z. B. Extraktion oder Adsorption, sind meist unvollständig bei so geringen Konzentrationen.

Damit kommen nur multiple Trennverfahren, z. B. Papierchromatographie, in Frage. Die Methode wird dadurch eingeschränkt auf stabile und inerte Chelatkomplexe bildende Metalle; bei Äthylendiamin-tetraessigsäure (EDTA) als Ligand z. B. Fe^{III} ; Co^{III} ; Ni^{II} ; (schwere) Seltene Erden u.a.m.

Mikroanalyse von Kobalt

1. *Papierchromatographie von Co^{2+} und $\text{Co}^{\text{III}}\text{EDTA}^-$* : Eine Reihe von Elutionsmitteln wurde untersucht. Unter diesen ergibt Methanol:n-Butanol:sym. Collidin:6 N Essigsäure = 2:1:1:1²⁾ eine gute Trennung mit den Rf-Werten $0,70 \pm 0,03$ für Co^{2+} und $0,32 \pm 0,02$ für CoEDTA^- (WHATMAN Nr. 1 voreluert und klimatisiert; absteigend; Zimmertemperatur).

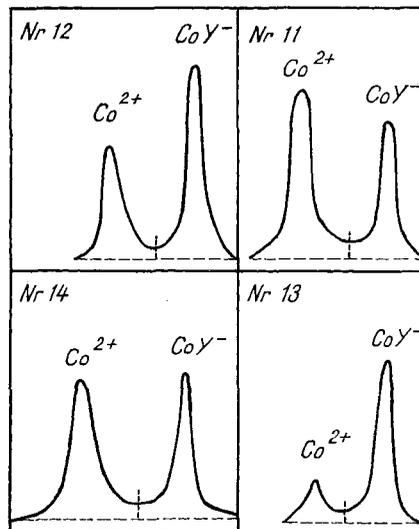


Fig. 1. Radioaktivitätsverteilung längs des Papierchromatogramms von Co^{2+} und CoEDTA^- , versehen mit ^{60}Co . Die zugegebene Menge EDTA steigt an in der Reihenfolge Nr. 11, 14, 12, 13, vgl. Tab. 1. Der Untergrund ist durch eine gestrichelte Gerade angedeutet. Zwischen den beiden Maxima erhält man einen erhöhten Nulleffekt, teils durch unvollständige Trennung von $\text{Co}^{2+}/\text{CoY}^-$, teils durch γ -Strahlung, welche die Blende (2-mm-Messing) durchdringt. Der senkrechte Strich zeigt die Teilung der beiden Flecke zur gesonderten Integration der Aktivitäten. Die pro Chromatogramm eingesetzte Co-Menge beträgt $0,02 \mu\text{g}$.

2. *Durchführung der Analyse*: Alle Lösungen werden in Polyäthylenflaschen mit dreifach destilliertem Wasser (2 Quarzstufen) hergestellt und aufbewahrt. Ein gemessenes Volumen der mit ^{60}Co (β , γ , $T_{1/2} = 5,2$ a) versehenen Co^{II} -Lösung wird mit einem bestimmten Volumen einer z. B. 10^{-5} M Lösung von $\{(\text{NH}_4)_3\text{HY}\}$ [$\text{Y} = \text{EDTA}^{4-}$] versetzt, wobei $\text{pH} \gtrsim 8$ gehalten wird. In diesem Milieu findet eine rasche Luftoxydation des CoY^{2-} zu CoY^- statt. Das Auftragen der zu chromatographierenden Lösung erfolgt mit nur einmal benutzten Glaskapillaren. Die Menge beträgt $0,01$ – $0,015$ ml, entsprechend einer Fleckgröße von $1,6$ – 2 cm \varnothing . Das Chromatogramm wird während ca. 15 h entwickelt mit einer Laufstrecke von 30 – 33 cm. Darauf wird der Papierstreifen sorgfältig getrocknet. Die Radioaktivitätsverteilung ermitteln wir durch einen Radio-papierchromatographen, der ähnlich dem früher erwähnten konstruiert ist³⁾. Die statistischen

²⁾ R. J. MAGIE & J. B. HEADRIDGE, *Analyst* 80, 785 (1955).

³⁾ E. SCHUMACHER & H. J. STREIFF, *Helv. A1*, 826 (1958).

Schwankungen auf dem erhaltenen Kurvenzug werden ausgeglichen. Man überträgt dann die glatte Kurve mit einem Pantographen auf starkes Papier und integriert die Radioaktivität unterhalb der beiden Maxima durch Ausschneiden und Wägen.

3. *Resultate*: Fig. 1 gibt die Radioaktivitätsverteilung längs der Papierstreifen für eine typische Versuchsreihe wieder. In Tab. 1 sind alle Messdaten zusammengestellt, während Fig. 2 zeigt, dass der vorausgesetzte stöchiometrische Zusammenhang erfüllt ist.

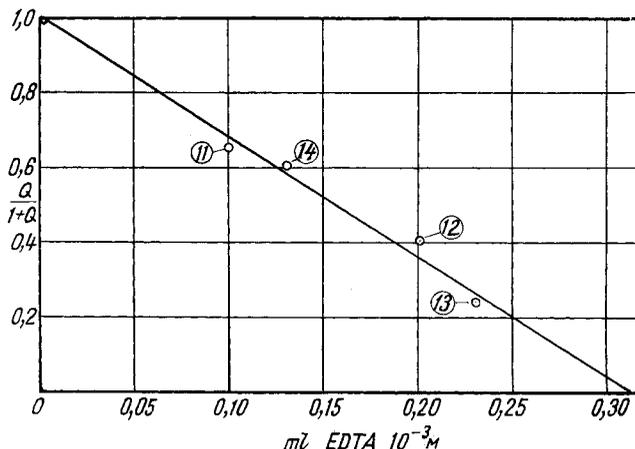


Fig. 2. Relative Aktivitätsverteilung auf die beiden Flecke Co^{2+} und CoY^- als Funktion des zugegebenen Volumens 10^{-5} M EDTA

Tabelle 1. Messdaten für die Mikroanalyse von Kobalt

Nr.	Co-Lösg. ml	10^{-5} M EDTA ml	Aktivitäten in mg Papier		Q	$\frac{Q}{1+Q}$	$[\text{M}]_t$ $\cdot 10^{-5}$
			Co^{2+}	CoY^-			
11	0,100	0,100	151,0	79,3	1,90	0,655	2,90
12	0,100	0,200	87,5	127,0	0,690	0,408	3,32
13	0,100	0,230	23,8	79,3	0,300	0,230	3,38
14	0,100	0,130	67,5	43,5	1,55	0,607	2,99

Bei der Auswertung nach (4) erhält man das Resultat

$$[\text{M}]_t = [3,1_5 \pm 0,3_7] \cdot 10^{-5} \text{ M } (P = 95\%).$$

Der Sollwert der eingesetzten Lösung beträgt $(2,88 \pm 0,2) \cdot 10^{-5}$ M. Das Ergebnis stimmt also innerhalb der Fehlergrenzen damit überein. Pro Chromatogramm und Messwert werden $2 \cdot 10^{-8}$ g $\sim 0,02$ μg Kobalt gebraucht.

Die vorgeschlagene Methode und die hier verwendete Ausführung erlauben es somit, auf einfache Weise Submikrogramm-Mengen von Kobalt auf etwa $\pm 10\%$ ($P = 95\%$) genau zu bestimmen. Erst bei 10^{-10} g war es nicht mehr möglich, eine für eine genaue Auswertung genügende Aktivität auf dem Chromatogramm zu erhalten, da das verwendete ^{60}Co eine zu geringe spezifische Aktivität aufweist. Jedoch zeigt sich noch kein Mangel der Methode, die bei stärker aktiviertem Kobalt bei noch kleineren Mengen funktionieren kann.

Die Empfindlichkeit und Präzision der Methode vergleichen sich demnach vorteilhaft mit der Neutronenaktivierungsanalyse, mit der es nur mit einem Neutronen-

fluss von $10^{14} \text{ n/cm}^2 \cdot \text{s}$ gelingt, eine Empfindlichkeit von einigen 10^{-10} g zu erreichen (wegen der grossen $T_{1/2} = 5,2 \text{ a}$ von ^{60}Co !)⁴⁾. Ein Nachteil gegenüber der letzteren Methode ist allerdings die Notwendigkeit, ohne Verunreinigungen zu arbeiten, die ebenfalls Komplexbildner binden könnten.

Mikroanalyse von Terbium

Die papierchromatographische Trennung von Tb^{3+} und TbY^- geschieht auf die gleiche Weise wie bei Kobalt beschrieben. Man findet die Rf-Werte $0,60 \pm 0,07$ für Tb^{3+} und $0,25 \pm 0,04$ für TbY^- . Zur Analyse wird ^{160}Tb ($\beta, \gamma, T_{1/2} = 73,5 \text{ d}$) zugesetzt. Fig. 3 gibt die Radioaktivitätsverteilung für eine typische Versuchsreihe wieder. Tab. 2 und Fig. 4 enthalten die Messdaten und die stöchiometrische Prüfung.

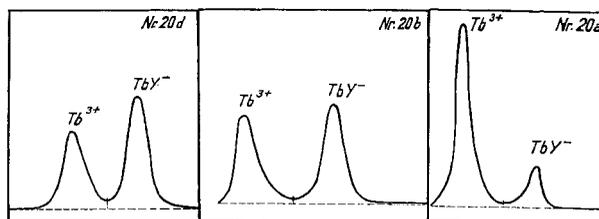


Fig. 3. Radioaktivitätsverteilung längs des Papierchromatogramms von Tb^{3+} und TbEDTA^- , versehen mit ^{160}Tb . Die zugegebene Menge EDTA steigt in der Reihenfolge Nr. 20a, 20b, 20d an, vgl. Tab. 2 und Unterschrift zu Fig. 1.

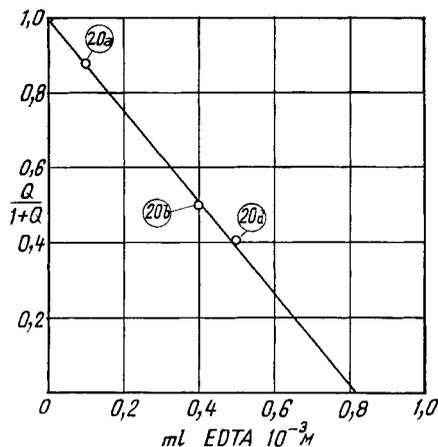


Fig. 4. Relative Aktivitätsverteilung auf die beiden Flecke Tb^{3+} und TbY^- als Funktion des zugegebenen Volumens 10^{-3} M EDTA. Die pro Chromatogramm verwendete Tb-Menge beträgt $10 \mu\text{g}$.

Tabelle 2. Messdaten für die Mikroanalyse von Terbium

Nr.	Tb^{3+} - Lösng. ml	10^{-3}M EDTA ml	Aktivitäten in mg Papier		Q	$\frac{Q}{1+Q}$	$[\text{M}]_t$ $\cdot 10^{-3}$
			Tb^{3+}	TbY^-			
20a	0,100	0,100	293	41,6	7,03	0,879	8,03
20b	0,100	0,400	118,7	118,7	1,00	0,500	8,00
20d	0,100	0,500	118,7	174,5	0,680	0,405	8,40

⁴⁾ W. W. MEINKE, *Analyt. Chemistry* 31, 792 (1959).

Man erhält $(8,1_4 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$ M ($P = 95\%$). Der Sollwert beträgt $(9,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$ M. Auch hier ist Übereinstimmung innerhalb der Fehlergrenzen festzustellen. Die Gesamtmenge pro Messwert und Chromatogramm beträgt $10 \mu\text{g}$ Tb. Damit ist die Empfindlichkeit aber bei weitem nicht erreicht, da sich auch kleinere Quantitäten noch stöchiometrisch in Kation und Komplex aufspalten lassen.

Weitere Versuche

1. Zur Kontrolle der Grundlagen wird eine Mikrobestimmung von Sr, mit ^{90}Sr (β , $T_{1/2} = 28\text{a}$; $\rightarrow ^{90}\text{Y}$, β , $T_{1/2} = 64\text{h}$) indiziert, durchgeführt. Hierbei findet man Radioaktivitätsverteilungen, bei denen sich durchaus ein Sr^{2+} und SrY^{2-} Maximum unterscheiden lassen. Die beobachtete Kurvenform lässt sich interpretieren als ein Chromatogramm von Sr^{2+} , $\text{SrY}^{2-} \rightarrow \text{Sr}^{2+}$ und zeigt analoge Eigenschaften, wie die von KELLER & GIDDINGS¹) berechneten Papierchromatogramme für ein System A \rightarrow B. Hierbei gilt $R_f(\text{Sr}^{2+}) \sim 2 R_f(\text{SrY}^{2-})$. Eine quantitative Auswertung nach (4) ist aber selbst bei $[\text{M}]_t = 0,1$ nicht möglich, was bei der geringen Stabilität und Labilität von SrY^{2-} zu erwarten ist.

2. Anstelle der papierchromatographischen Trennung wurde bei Co eine Trennung von $\text{Co}^{2+}/\text{CoY}^-$ mit Hilfe einer kleinen Anionentauschersäule (Dowex 1, 200-400 mesh, 8% X, Cl^- -Form) untersucht. Das Kation ist dabei, falls $[\text{M}]_t > 10^{-6}$ M, quantitativ mit Wasser auszuwaschen, während das adsorbierte Anion CoY^- erst mit 3 N HCl wieder herauskommt. Die beiden Fraktionen ergeben nach Auszählung und Anwendung von Gleichung (4) mit dem papierchromatographischen Verfahren innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmende Resultate. Beim Tb waren analoge Versuche weniger erfolgreich.

3. Extraktion des Co^{2+} als Dithizonat zur Trennung von CoY^- führte nicht zu reproduzierbaren Resultaten.

Diskussion und Zusammenfassung

1. Eine radiometrische Titration von Mikro- und Submikrogramm-Mengen von Co und Tb mit EDTA gelingt bei papierchromatographischer oder Ionentauscher-Trennung von Kation und Chelat.

2. Die beiden Partikeln CoY^- und TbY^- erweisen sich unter den angewendeten Bedingungen als genügend inert. Aus den Experimenten folgt eine Halbwertszeit für den Komplexzerfall im Elutionsmilieu von $\geq 13 \pm 5$ h. Für CoY^- ist dies wohl bekannt, während für Seltene Erd-Ionen erst vor kurzem kinetische Daten erhalten worden sind, die unseren Befund erklären⁵⁾.

3. Die Anwendung der Methode auf eine Reihe analoger Komplexbildungsreaktionen ist gegeben und wird uns bei radiochemischen Arbeiten beschäftigen.

Diese Arbeit wurde im Rahmen des Projektes A 92 der KOMMISSION FÜR ATOMWISSENSCHAFT DES SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS ausgeführt. Für die gewährte Unterstützung sei hier bestens gedankt.

Zürich, Anorganisch-chemisches Institut der Universität

⁵⁾ R. H. BETTS, O. F. DAHLINGER & D. M. MUNRO, Radioisotopes in Scientific Research; R. C. EXTERMANN (ed.), Pergamon, p. 326 (1958).