

STUDIUM DER KOMPLEXVERBINDUNGEN IN LÖSUNG MITTELS PAPIERELEKTROPHORESE*

II. ELEKTROPHORETISCHE BEWEGLICHKEIT UND STABILITÄT DER EINKERNIGEN KOMPLEXE

VLADIMÍR JOKL

*Lehrstuhl für Analytische Chemie, Pharmazeutische Fakultät der Komensky-Universität,
Bratislava (Tschechoslowakei)*

(Eingegangen den 5. Juli 1963)

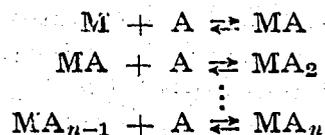
Professor A. OKÁČ zum 60. Lebensjahre gewidmet

In erster Mitteilung dieser Reihe¹ wurde die Bedeutung der elektrophoretischen Beweglichkeitskurve (als einer Funktion der Konzentration des freien Liganden) beim Studium von löslichen Komplexen mit negativ geladenen Liganden dargelegt. Es wurden empirische Gleichungen für Abschätzung der Zusammensetzung der Komplexe auf Grund elektrophoretischer Beweglichkeiten in Gebieten der Plateaus der Beweglichkeitskurven abgeleitet. Die Beweglichkeit in Gebieten der sinkenden Äste der Beweglichkeitskurven ist von der Konzentration des freien Liganden abhängig. Die Lage dieser Gebiete stellt eine Information über Stabilität der entstehenden Komplexe dar.

Den Einfluss der Konzentration des Komplexbildners auf die Beweglichkeiten der Jodokomplexe vom Kadmium bei freier Elektrophorese (Tiselius) haben ALBERTY UND KING² untersucht. Die Autoren haben ihre Resultate auch — mit Hinsicht auf die Stabilitätskonstanten — quantitativ interpretiert. Das Verhalten der Halogenokomplexe bei der Papierelektrophorese ist von PUČAR³ studiert worden; er hat im allgemeinen den Einfluss der Konzentration des Komplexbildners auf die Beweglichkeiten festgestellt, bzw. bestätigt. Schon vorher ist dies an Quecksilber (II)-Chlorokomplexen demonstriert worden⁴. Vom theoretischen Standpunkt ist das Problem von KÖRÖSY⁵ angedeutet worden. Grundsätzlich haben sich mit der Relation der Beweglichkeit zur Konzentration des Komplexbildners und zu Dissoziationskonstanten der Komplexe WETZEL UND VOIGT⁶ beschäftigt, und zwar im Sinne der zielbewussten Wahl bester Bedingungen für Trennung der Ionen; experimentell ist von ihnen die Problematik nicht untersucht worden.

THEORETISCHER TEIL

Ein Zentralatom M bildet mit negativ geladenen Liganden A stufenweise einkernige Komplexe MA_i:



* Vorläufige Mitteilung: *Česk. Farm.*, 12 (1963) 44.

MA_n ist der höchste Komplex, welcher unter gegebenen Bedingungen entstehen kann. Ausserdem verläuft auch die Hydrolyse des Ions:



Die einzelnen Komplexstufen (einschliesslich freien Zentralions) M , MA , ... MA_n , MOH weisen die elektrophoretischen Beweglichkeiten $u_0, u_1, \dots, u_n, u_{MOH}$ auf. Für Komplexe mit negativ geladenen Liganden gilt immer $u_{i-1} > u_i$, wenn man die Beweglichkeit zur Kathode konventionell als positiv bezeichnet. Ist das Gleichgewicht der Komplexbildung mobil, dann kommt es bei der Migration während der Elektrophorese nicht zur Trennung auf einzelne Zonen, sondern das Gleichgewichtsgemisch wandert als einzige Zone. Ihre Beweglichkeit bezeichnen wir als aktuelle Beweglichkeit U (sonst auch "net-mobility" genannt). Diese muss im Intervall (u_0, u_n) liegen und hat einen additiven Charakter. Alle Komponenten des Gleichgewichtsgemisches tragen der aktuellen Beweglichkeit je nach ihrem Anteil im Gemisch bei:

$$\begin{aligned} U &= u_0 \frac{[M]}{c_M} + u_1 \frac{[MA]}{c_M} + \dots + u_n \frac{[MA_n]}{c_M} + u_{MOH} \frac{[MOH]}{c_M} = \\ &= \frac{\sum_{i=0}^n u_i [MA_i] + u_{MOH} [MOH]}{\sum_{i=0}^n [MA_i] + [MOH]} \end{aligned} \quad (1)$$

($MA_0 = M$!).

Unter gewissen Bedingungen kann im Gleichgewichtsgemisch eine Komplexstufe weitaus überwiegen; sie bestimmt dann praktisch allein die Beweglichkeit und auf der Beweglichkeitskurve ist dies durch ein Plateau gekennzeichnet (vergl. Fig. 2 in Mitt. I¹).

Die sinkenden Äste der Beweglichkeitskurve entstehen durch Koexistenz von mehreren nachfolgenden Komplexstufen in vergleichbaren Konzentrationen. Bei grossen Unterschieden in Stabilitäten existieren praktisch nur zwei Komplexstufen MA_{i-1} und MA_i zusammen im Gleichgewicht, und die entsprechenden Wellen an der Beweglichkeitskurve sind gut abgetrennt (z.B. die Kupfer-Glycin-Komplexe $CuGl_2$ und $CuGl_3^-$, Fig. 1 der Mitt. I). Sonst gibt es mehrere nachfolgenden Komplexstufen im Gleichgewicht, und die einzelnen Wellen superponieren sich in eine Resultante (z.B. die Komplexe $CuGl^+$ und $CuGl_2$ an der erwähnten Abbildung).

Alle ausgesprochenen Voraussetzungen können nur dann als gültig betrachtet werden, wenn der Grundelektrolyt den Komplexbildner enthält. Die Konzentration des Liganden muss räumlich und zeitlich konstant bleiben⁶, also gepuffert sein. Wenn nämlich bei einer Reaktion der Komplexbildung in freier Lösung die Konzentration des freien Liganden ein Ergebnis der Einstellung des Gleichgewichtes ist, dann ist sie bei der Trägerelektrophorese im Gegenteil für die Einstellung des Gleichgewichtes in der wandernden Zone bestimmend. Ihre Konstanz gewährleistet auch die konstante Verteilung aller Komplexstufen während der Migration.

Die Forderung gepufferter Konzentration lässt sich leicht erfüllen, wenn als Liganden die Anionen einer schwachen Säure H_pA auftreten. Ihre Konzentration ist bekanntlich gleich:

$$[A] = c_{H^+pA} \cdot \frac{\kappa_p}{\sum_{j=0}^p \kappa_j [H^+]^{p-j}} \quad (2)$$

$$(K_0^H = 1, \kappa_j = K_1^H \cdot K_2^H \dots K_j^H)$$

Die Gleichung (2), welche zur Berechnung von $[A]$ mittels der gemessenen pH-Werte dient, zeigt zugleich, dass in einer Lösung mit gepufferter Protonenaktivität auch die Konzentration $[A]$ gepuffert ist. Mit Ausnahme der eigenen Puffergebiete der komplexbildenden Säure muss also der Grundelektrolyt fremde Puffer enthalten, deren Komplexwirkung gegenüber dem studierten Komplexbildner allerdings vernachlässigbar sein muss.

Die aktuelle Beweglichkeit hängt von der Konzentration des freien Liganden ab. Dies geht daraus hervor, dass man in der Gleichung (1) die Gleichgewichtskonzentrationen mittels der betreffenden Komplexbildungskonstanten ausdrückt:

$$U = \frac{[M] \left(u_0 + u_1 K_1 [A] + u_2 K_1 K_2 [A]^2 + \dots + u_n K_1 K_2 \dots K_n [A]^n + U_{MOH} \frac{h_H}{[H^+]} \right)}{[M] \left(1 + K_1 [A] + K_1 K_2 [A]^2 + \dots + K_1 K_2 \dots K_n [A]^n + \frac{h_H}{[H^+]} \right)} =$$

$$= \frac{\sum_{i=0}^n u_i \beta_i [A]^i + u_{MOH} \frac{h_H}{[H^+]}}{\sum_{i=0}^n \beta_i [A]^i + \frac{h_H}{[H^+]}} \quad (3)$$

($\beta_0 = 1$, $\beta_i = K_1 \cdot K_2 \dots K_i$, h_H = erste hydrolytische Konstante des Kations M).

Die Gleichung (3) ist die allgemeine Gleichung der Beweglichkeitskurve eines ein-kernigen Komplexes (siehe Fig. 1). Sie zeigt, dass die Beweglichkeit nicht von der Konzentration des Zentralatoms, sondern nur von der des freien Liganden abhängig ist (unter Voraussetzung vollkommen gepufferter Konzentration $[A]$ mit genügender Kapazität). Die Beweglichkeitskurve lässt sich zwar auch als Funktion des pH-Wertes des Grundelektrolyten konstruieren, aber für die Abschätzung von Stabilitäten ist die Abhängigkeit von $[A]$ geeigneter. Es ist weiter ersichtlich, dass im Falle

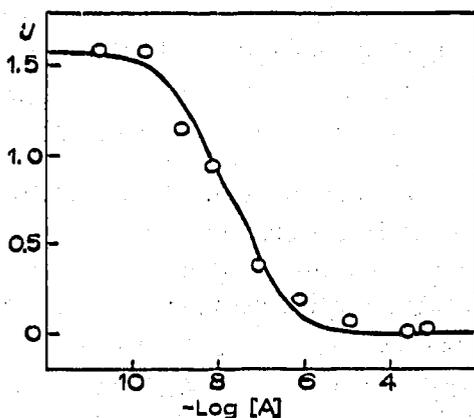


Fig. 1. Die Beweglichkeitskurve des Kupfer-Glycin-Komplexes. $\circ - \circ$ Experimentalpunkte: $c_{Cu} = c_{Gl} = 5 \cdot 10^{-2}$; $T = 20^\circ$; $\mu = 0.1$. — Kurve berechnet nach Gleichung (3): $\log K_1 = 8.62$, $\log K_2 = 6.97$ (Lit. 7); $u_0 = 1.57$, $u_1 = 0.81$.

eines nicht zu grossen Hydrolysekonstanten und nicht zu schwacher Komplexe der Einfluss der Hydrolyse völlig vernachlässigbar ist (z.B. mittelstabile Komplexe der zweiwertigen Übergangsmetalle).

Die Ermittlung der Komplexbildungskonstanten durch Auswerten einiger Experimentalpunkte gibt in Bezug auf die verminderte Genauigkeit der elektrophoretischen Methode inkonsistente Ergebnisse. Viel besser ist eine graphische Auswertung der Beweglichkeitskurve, die selbst schon eine gewisse Ausgleichung darstellt. Man bestimmt den Punkt $U_{1/2}$ auf der Beweglichkeitskurve, für welchen die Bedingung

$$K_i \cdot [A] = 1 \quad (\text{oder } \log K_i = -\log [A]) \quad (4)$$

gültig ist:

$$U_{1/2} = \frac{u_0 + \dots + u_{i-1} \beta_{i-1} [A]^{i-1} + u_i \beta_i [A]^i + \dots}{1 + \dots + \beta_{i-1} [A]^{i-1} + \beta_i [A]^i + \dots} \quad (3a)$$

In bezug auf Gleichung (4) gilt es:

$$\beta_i \cdot [A]^i = \beta_{i-1} \cdot [A]^{i-1}$$

Bei grossen Unterschieden der Komplexbildungskonstanten ist ausserdem

$$1 \ll K_1 [A] \ll \dots \ll \beta_i [A]^i \gg \beta_{i+1} [A]^{i+1} \gg \dots$$

Die Gleichung (3a) geht dann in die vereinfachte Form über:

$$U_{1/2} = \frac{u_{i-1} + u_i}{2} \quad (5)$$

Durch Ablesen der zugehörigen Werte von $[A]$ bekommt man laut Gleichung (4) die annähernden Werte von K_i .

Bei mehrstufiger Komplexbildung sind die oben angeführten Beziehungen nur dann genau gültig, wenn die einzelnen Wellen der Beweglichkeitskurve gut ausgebildet und abgetrennt sind (d.h. bei grossen Unterschieden der Konstanten). Sonst existieren mehr als zwei Komplexstufen nebeneinander, und die ermittelten Konstanten sind als approximative Werte anzusehen, die mit geringeren oder grösseren Fehlern belastet sind. Berechnung genauerer Konstanten mittels fortschreitender Approximationen ist wegen der kleinen Genauigkeit der elektrophoretischen Methode selbst nicht zweckmässig.

EXPERIMENTELLES

Die Arbeitsmethodik, Versuchsanordnung und Auswertung der Ergebnisse wurden in der vorangegangenen Mitteilung¹ beschrieben. Alle Beweglichkeiten sind als relative Werte auf $(C_2H_5)_4N^+$ bezogen ($u = 1.00$), unter Berücksichtigung der Elektroosmose.

Die für Konstruktion von Beweglichkeitskurven nötigen Werte von $[A]$ wurden nach der Gleichung (2) berechnet.

Versuchsmaterial

Die Grundelektrolyte enthielten (wenn nicht anders angegeben) die komplexbildende Säure in 0.05 M Konzentration. Ausserhalb der eigenen Puffergebiete der Säuren

wurden Chloracetat-, Formiat-, Acetat-, Veronal- oder Borat-puffer in 0.05 M Konzentration zugegeben. Die Ionenstärke wurde je nach Gebrauch auf den Wert $\mu = 0.1$ mit KNO_3 aufgestellt. Der pH-Wert der bereiteten Lösungen wurde mit dem Kompensations-pH-meter PHK 1, Mikrotechna-Prag (hochohmige Glaselektrode) gemessen.

Die Konzentration der aufzubringenden Komplexe war ebenfalls 0.05 M; die Lösungen wurden vor dem Aufbringen annähernd auf den pH-Wert des betreffenden Grundelektrolyten aufgestellt (aber nur wenn keine Fällung entstand).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Fig. 2 stellt einige typischen Beweglichkeitskurven von Komplexen dar, an welchen die Grundrisse der qualitativen Interpretation der Kurven gezeigt werden sollen. Die Kurve des Kupfer-glycinats (1) zeigt die Bildung eines elektroneutralen Kom-

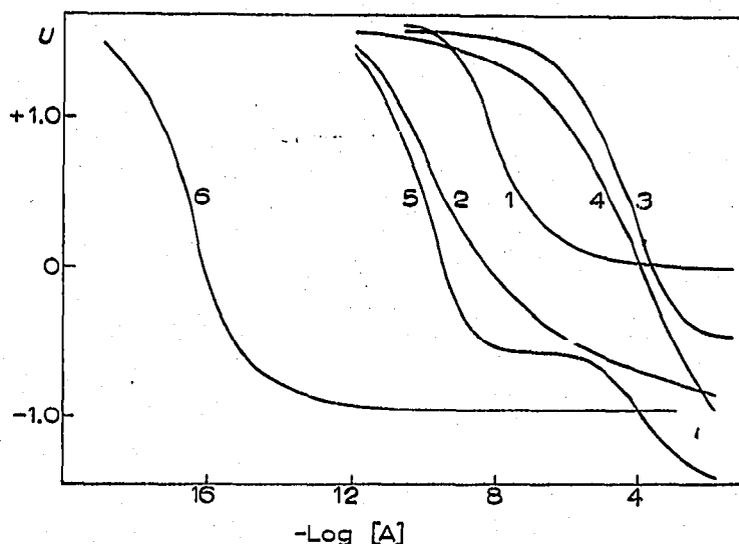


Fig. 2. Die experimentellen Beweglichkeitskurven einiger Komplexe. $T = 20^\circ$; $c_M = c_A = 5 \cdot 10^{-2}$; $\mu = 0.1$ mit Ausnahme eines Teils der Kurven 5 und 6. (1) Kupfer-Glycin; (2) Kupfer-Glutaminsäure; (3) Zink-Glycin; (4) Zink-Glutaminsäure; (5) Kobalt (II)-Nitrilotriessigsäure; (6) Kobalt (II)-Äthylendiamino-tetraessigsäure ($c_A = 10^{-3}$).

plexes; in den untersuchten Versuchsbedingungen entsteht also der Komplex CuGl_2 . Auch mit der Glutaminsäure (2) bildet sich höchstens Kupferkomplex 1:2, welcher nach der empirischen Gleichung¹:

$$\frac{u}{z} = 14.7 \frac{1}{\sqrt{m}} - 0.29 \quad (6)$$

die Beweglichkeit -0.98 besitzen soll. Dagegen die Zinkkomplexe von Glycin (3) und Glutaminsäure (4) weisen wesentlich negativere Beweglichkeiten auf, die offenbar auf die Komplexe 1:3 hinweisen. Beweglichkeit des Zink-Glycin-komplexes nach Gleichung (6) ist -0.58 (exptl. -0.46); die Beweglichkeit des höchsten Zink-Glutamato-komplexes lässt sich aus der Kurve nicht bestimmen, sie sollte nach Gleichung (6) -1.48 betragen. Die geringere Stabilität der Zinkkomplexe gegenüber den Kupfer-

komplexen ist schon an der Verschiebung der Kurven in Richtung höherer Konzentrationen von [A] qualitativ ersichtlich.

Die Beweglichkeitskurve des Kobalt (II)-komplexes der Nitrilotriessigsäure (5) weist zwei gut abgetrennte Wellen auf. Die erste gehört dem Komplex $[\text{CoX}(\text{H}_2\text{O})_2]^-$ (Beweglichkeit ber. -0.58 , gef. -0.56), die zweite dem höheren Komplex $[\text{CoX}_2]^{4-}$ (Beweglichkeit ber. -1.64). Mit der Äthylendiamino-tetraessigsäure entsteht lediglich der Komplex $[\text{CoY}]^{2-}$ mit der Beweglichkeit -0.96 (ber. -1.0).

Die Stabilität einer Reihe von Komplexen verschiedener Aminosäuren mit zweiwertigen Übergangsmetallen wurde mit Hilfe der Gleichung (5) untersucht. Werte

TABELLE I
STABILITÄTSKONSTANTEN EINIGER KOMPLEXE
($T = 20^\circ$, $\mu = 0.1$)

Metall	Komplexbildner	$\log K_1$		$\log K_2$		$\log K_3$	
		Exptl.	Literatur	Exptl.	Literatur	Exptl.	Literatur
Cu	Glycin	8.6	8.62	7.2	6.97	0.15	0.33
Co(II)		5.5	5.23	3.5	4.02	2.3	—
Ni		6.4	6.18	4.4	4.98	3.0	—
Cd		6.0	—	3.9	8.1*	2.6	—
Mn		3.9	3.84	1.7	1.66	—	—
Zn		5.9	5.52	4.2	4.44	3.1	2.6
Cu	Alanin	8.5	8.51	6.7	6.86	—	—
Co(II)		5.0	4.82	3.2	3.66	2.4	—
Ni		6.0	5.96	4.3	4.70	2.9	—
Cd		5.9	—	3.5	—	2.4	—
Mn		3.4	3.02	1.9	3.03(?)	—	—
Zn		5.7	5.21	3.9	4.33	2.3	—
Cu	Leucin	8.6	—	7.0	14.34*	—	—
Co(II)		5.2	—	3.2	8.25*	2.3	—
Ni		6.3	—	4.0	—	2.5	—
Cd		5.8	—	3.6	—	2.4	—
Mn		3.9	—	1.8	5.45*	—	—
Zn		5.8	—	4.2	8.93*	3.3	—
Cu	Methionin	8.1	—	6.7	14.7*	—	—
Co(II)		4.5	—	3.1	7.9*	1.9	—
Ni		5.7	—	3.7	—	2.3	—
Cd		5.4	—	3.3	—	2.1	—
Mn		3.2	—	(1.5)	—	—	—
Zn		4.9	—	3.6	—	(3.2)	—
Cu	Glutaminsäure	10.1	—	6.3	—	—	—
Co(II)		4.9	—	3.1	—	—	—
Ni		5.8	—	3.4	—	—	—
Cd		5.3	4.39	2.9	—	—	—
Mn		3.4	—	—	—	—	—
Zn		5.6	—	3.2	—	—	—
Cu	Nitrilotriessigsäure	11.5	12.7	3.3	—	—	—
Co(II)		10.0	10.6	3.4	3.9	—	—
Cd		10.0	9.8	4.6	5.7	—	—
Mn		8.6	7.4	3.0	3.7	—	—

* $\log K_1 \cdot K_2$.

der Beweglichkeiten, die sich nicht experimentell erfassen lassen, wurden nach der Gleichung (6) berechnet. In der Tabelle I sind die gefundenen annähernden Komplexbildungskonstanten mit den potentiometrisch (pH) bestimmten⁷ verglichen, um die Tragweite, Möglichkeiten und Genauigkeit der elektrophoretischen Methode kritisch beurteilen zu können. Natürlich handelt es sich um Konzentrationskonstanten, weil sie nicht auf Aktivitäten, sondern auf Konzentrationen der beteiligten Stoffe bezogen sind. Einige der angegebenen Konstanten wurden bisher mit anderen Methoden nicht bestimmt.

Die Versuchsbedingungen bei der Papierelektrophorese können nicht genügend konstant gehalten werden und ausserdem ist die Bestimmung der Beweglichkeiten nicht allzu genau (auf 3-5 % reproduzierbar). Deswegen muss man die ermittelten Konstanten vor allem als Orientierungswerte ansehen. Am besten lassen sich Komplexe von mittlerer Stabilität untersuchen ($\log K$ etwa 3-12). Für schwache Komplexe sind hohe Konzentrationen vom Komplexbildner und Puffern erforderlich, was auf technische Hindernisse stösst (vor allem auf ein zu grosses Leitvermögen der Lösungen). Bei sehr stabilen Komplexen ist manchmal die Bedingung eines mobilen Reaktionsgleichgewichtes nicht mehr erfüllt; ausserdem gibt es Schwierigkeiten mit der Pufferung in extrem niedrigen Konzentrationsbereichen.

Die Methode besitzt aber einige Vorteile. Als ein Trennverfahren erlaubt sie auch bei Anwesenheit fremder Stoffe zu arbeiten (soweit sie nicht in den Migrationsvorgang direkt eingreifen) und der Aufwand an untersuchten Metallsalzen ist äusserst gering. Im Vergleich mit anderen physikalisch-chemischen Methoden für das Studium der Komplexe in Lösung gibt sie eine direkte Auskunft über die Art, Zusammensetzung oder Ladung der entstehenden Körper. Sie stellt somit einen guten Ausgangspunkt für Anwendung sonstiger genauerer Untersuchungsmethoden.

DANK

Der Autor fühlt sich Herrn Dr. D. DYRSSEN, Stockholm, mit dem besten Dank für eine wertvolle Bemerkung zu dieser Arbeit verpflichtet.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde die allgemeine Gleichung der Beweglichkeitskurve für lösliche einkernige Metallkomplexe mit Anionen schwacher Säuren abgeleitet und ihre Geltung an einer Reihe von Komplexen der zweiwertigen Metallionen mit einigen Aminosäuren bestätigt. Eine graphische Methode für Bestimmung der annähernden Komplexbildungskonstanten aus der elektrophoretischen Beweglichkeitskurve wurde vorgeschlagen, und die gefundenen Konstanten mit den potentiometrisch bestimmten verglichen. Die Beschränkungen und Vorteile der Methode wurden besprochen.

SUMMARY

The general equation for the electrophoretic mobility curve of soluble mononuclear complexes of metals with anions of weak acids is derived. The validity of this equation is confirmed in the case of complexes of some bivalent metal ions with several amino acids. A graphic method for the determination of the approximate stability constants

from the electrophoretic mobility curves is proposed, and the electrophoretic values are compared with the potentiometric values. The limitations and advantages of the method are discussed.

LITERATUR

- ¹ V. JOKL, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 451.
- ² R. A. ALBERTY UND E. L. KING, *J. Am. Chem. Soc.*, 73 (1951) 517.
- ³ Z. PUČAR, *Anal. Chim. Acta*, 17 (1957) 476, 485; 18 (1958) 290.
- ⁴ K. A. KRAUS UND G. W. SMITH, *J. Am. Chem. Soc.*, 72 (1950) 4329.
- ⁵ F. KÖRÖSY, *Magy. Kém. Folyóirat*, 60 (1954) 101.
- ⁶ K. WETZEL UND G. VOIGT, *Z. Phys. Chem.*, 216 (1961) 7.
- ⁷ A. E. MARTELL UND M. CALVIN, *Chemistry of the Metal Chelate Compounds*, Prentice-Hall, New York, 1956.

J. Chromatog., 14 (1964) 71-78