

## ZUR BESTIMMUNG DER PHOSPHORVERTEILUNG AUF DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAMMEN

H. PETSCHIK UND E. STEGER

*Institut für Spezielle analytische Chemie, Technische Universität Dresden (D.D.R.)*

(Eingegangen den 3. Juli 1967)

Um die quantitative Zusammensetzung von Gemischen aliphatischer Phosphorsäureester zu ermitteln, wenden wir mit gutem Erfolg seit Mitte 1962 das hier beschriebene Verfahren an.

Prinzip: Sämtliche Flecke eines Chromatogramms werden kurz nach der Trennung aus der Schicht entnommen. Die Phosphorverbindungen werden in Anwesenheit des Adsorbens mineralisiert. Nach Abtrennung ungelösten Schichtmaterials wird das Phosphat photometrisch bestimmt. Aus den Mengen, die auf die einzelnen Flecke entfallen, erhält man die Phosphorverteilung auf dem Chromatogramm.

Entscheidend für die Anwendung der Methode war die Erkenntnis, dass trotz unvollständiger Erfassung des in Form phosphororganischer Verbindungen aufgetragenen Phosphors die relativen Phosphorgehalte recht genau ermittelt werden können. 15 bis 50% des aufgetragenen Phosphors gehen für die quantitative Bestimmung verloren. Einen wesentlichen Teil davon bindet das Adsorbens, ein Teil verdampft bei flüchtigen Verbindungen zwischen Auftragen und Entnehmen, ein kleiner Teil der Schicht bleibt auf der Glasplatte zurück. Es erwies sich als unnötig, Korrekturen für die fehlenden Phosphormengen einzuführen oder Adsorbentien zu suchen, die sich in annehmbar kurzer Zeit vollständig auflösen lassen; denn die Phosphorverluste für die einzelnen Flecke eines Chromatogramms waren den gefundenen Phosphormengen annähernd proportional. Die Untersuchung mehrerer Ester-Testgemische ergab, dass man Phosphorverteilungswerte mit einer Standardabweichung von 1.2% (absolut) bestimmen kann. Absolute Gehalte an bestimmten Phosphorverbindungen im aufgetragenen Gemisch lassen sich aus den Verteilungswerten errechnen, wenn der Phosphorgehalt der Probe und die Summenformeln der einzelnen Verbindungen bekannt sind.

### DURCHFÜHRUNG DER QUANTITATIVEN CHROMATOGRAMMAUSWERTUNG

#### *Herstellung und Bearbeitung der Chromatogramme*

Die Beschichtung der Glasplatten ( $4 \times 20 \text{ cm}^2$ ) und die Aktivierung der Schicht erfolgte wie früher beschrieben<sup>1</sup>. Die Schichtdicke betrug  $1/4 \text{ mm}$ . Als Adsorbens diente Aluminiumoxid nach Brockmann, als Bindemittel Weizenstärke. Die Probe wurde mittels einer waagrecht gehaltenen, beiderseits offenen Kapillare (Schmelzpunktröhrchen) auf die senkrecht stehende Platte in kleinen Tupfen längs der Startlinie aufgetragen. Die aufgebrauchte Menge braucht nicht genau bekannt zu sein. Es wurde getrachtet, die Kapazität der Schicht gut auszunutzen und soviel Substanz

einzusetzen, wie sich noch einwandfrei in die gewünschten Fraktionen auftrennen liess. Bei sehr verdünnten Lösungen muss mehrmals kurz hintereinander aufgetragen werden, damit das Band am Start nicht zu breit ausfällt. Die in Form von Verbindungen eingesetzten Phosphormengen lagen in der Regel zwischen 1.5 und 6 mg P pro Chromatogramm. Sofort nach dem Auftragen der Probe wurde die Platte für 10 bis 12 Min. in das Laufmittel, z.B. Heptan-Aceton (10:1), gestellt. Die Flecke in der Schicht wurden *ca.* 1/2 Min. nach dem Herausnehmen aus dem Laufmittel mit einem geeigneten Sprühreagens, meist mit Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch, sichtbar gemacht und die Grenzen mit Bleistift oder durch Einritzen markiert. Gleich danach wurde mit dem Spatel über einen Pulvertrichter die Schicht zonenweise in bereitgestellte Reagenzgläser (18 cm lang, 17 mm Durchmesser, aus Jenaer Glas) abgeschabt, die Flecke flüchtigerer Substanzen zweckmässig als die ersten. Wenn nicht zu stark besprüht worden war, blieb der Pulvertrichter trocken, das Schichtmaterial fiel durch leichtes Klopfen nach unten.

#### *Mineralisierung der Phosphorverbindungen*

Die Reagenzgläser mit den Krümeln aus den einzelnen Chromatogrammzonen wurden mit je 3.2 ml Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch<sup>1,2</sup> beschickt. (Perjodsäure stört die photometrische Phosphorbestimmung, wenn mehr als 0.9 ml Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch auf 100 ml angefarbte Lösung verwendet werden; wir berichten darüber noch an anderer Stelle. Mit der angegebenen Menge Gemisch bleibt man stets unterhalb der kritischen Perjodsäurekonzentration, da schliesslich 100 ml Messlösung nur 1/4 des Aufschlusses enthalten, s.u.). Vom Auftragen der Probe bis zum Bedecken des abgekratzten Schichtmaterials mit dem Aufschlussmittel muss bei relativ leicht flüchtigen Phosphorverbindungen möglichst zügig gearbeitet werden. Zur vollständigen Überführung alles vorhandenen Phosphors in Phosphat wurde die entstandene Suspension unter ständigem kräftigen Schütteln erhitzt. Nach anfangs heftiger Reaktion sollen schliesslich für 1/2 bis 1 Min. dicke weisse Nebel aus dem Reagenzglas entweichen. Die Mineralisation dauert insgesamt *ca.* 2 Min. Der erkaltete Aufschluss wurde mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt. Das ungelöste Schichtmaterial trennt man am besten durch Zentrifugieren ab. Aus den Zentrifugengläsern wurden 25 ml Lösung für die Phosphatbestimmung abgenommen und zu 100 ml Messlösung verarbeitet.

#### *Photometrische Phosphorbestimmung*

Zur Phosphorbestimmung diente das Vanadatverfahren. Phosphat wird in den löslichen, gelb gefärbten Komplex  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4 \cdot \text{NH}_4\text{VO}_3 \cdot 16 \text{MoO}_3$  überführt<sup>3</sup>. Als Messgeräte standen ein Lange-Kolorimeter, Modell VII, und ein Multiflex-Galvanometer zur Verfügung. Ein Akkumulator speiste die Glühbirne im Kolorimeter. Es wurden Küvetten von 100 ml Fassungsvermögen und 37 mm Schichtdicke sowie Blaufilter BG 12 (maximale Durchlässigkeit bei 407 nm) in Mess- und Vergleichsstrahlengang verwendet.

Zur Herstellung des Farbreagens<sup>4</sup> wurden gleiche Volumina folgender Lösungen in der Reihenfolge I, II, III gemischt. (I) 68%ige Salpetersäure-dest. Wasser 1:2; (II) 2.5 g Ammoniummetavanadat in 0.5 l siedendem Wasser lösen, nach dem Erkalten 20 ml 68 %ige Salpetersäure zusetzen und zu 1 l auffüllen; (III) 50 g Ammoniummolybdat in 800 ml Wasser von 50° auflösen, nach Erkalten zu 1 l auffüllen.

Die auf Phosphat zu untersuchende Flüssigkeit wurde mit 30 ml farbgebender Lösung versetzt. Nach Auffüllen mit Wasser auf 100 ml wurde die Flüssigkeit gut durchmischt und 1/2 Std. zur vollständigen Farbentwicklung stehengelassen. Die Messung erfolgte im Zeitraum von 1/2 bis 2 Std. nach dem Anfärben. Erwies sich eine Lösung als zu konzentriert, so wurde sie mit einem Gemisch aus 30 ml farbgebender Lösung und 70 ml Wasser verdünnt. Die Blindlösung, mit der die Messlösung verglichen wurde, enthielt in 100 ml Flüssigkeit 0.6 ml Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch und 30 ml farbgebende Lösung.

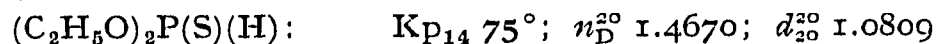
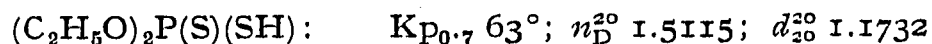
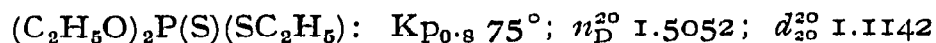
Die gemessenen Galvanometerausschläge wurden über eine Eichkurve (10...200 Mikrogramm P pro 100 ml Lösung) in Phosphormengen umgerechnet. Für Absolutbestimmungen von Phosphor empfiehlt es sich, täglich frische Blindlösung zu verwenden und die Eichkurve durch einige Testbestimmungen zu kontrollieren. Wenn jedoch wie bei der hier beschriebenen Chromatogrammauswertung das Verhältnis der Phosphormengen zueinander primär wichtig ist, dann genügt es, einmal wöchentlich die Eichkurve und zweitägig die Blindlösung zu erneuern.

#### *Berechnung der Ergebnisse*

Phosphorverteilungswerte: Unter Verwendung der Summe aller für die einzelnen Zonen eines Chromatogramms gefundenen Phosphormengen berechnet man für jede den prozentualen Anteil. In der Regel wurde aus den Verteilungswerten dreier Chromatogramme für jede Zone der Mittelwert gebildet (vgl. Tabelle I). Den Absolutgehalt einer bestimmten Verbindung im Gemisch erhält man aus dem Verteilungswert und dem Phosphorgehalt dieser Verbindung und aus dem Phosphorgehalt des Gemisches.

#### TESTVERSUCHE

Es wurden definierte Gemische folgender drei Ester mit Heptan bzw. Dekalin hergestellt, die theoretischen Verteilungswerte errechnet und mit den gefundenen Werten verglichen (Tabelle I).



#### *Reproduzierbarkeit der Werte*

Einen Näherungswert für die Standardabweichung von  $s = 1.2\%$  (absolut) erhält man aus den Werten in Tabelle I nach Formel Nr. 5.1 bei DOERFFEL<sup>5</sup>.  $s = 1.2\%$  abs. wurde auch bei anderen Gemischen (Auftrennung in zwei bis vier Flecke, Verteilungswerte für jede Komponente zwischen 7 und 70%) nach einiger Übung gut erreicht. Für die kleinsten überhaupt ermittelten Verteilungswerte (ca. 1% absolut, bei binären Gemischen) lag  $s$  bei 0.3% absolut.

#### *Richtigkeit der Werte*

Das Vertrauensintervall des Mittelwertes, innerhalb dessen bei Abwesenheit systematischer Fehler Sollwert und gefundener Mittelwert übereinstimmen müssen, wurde für Mittelwerte aus drei Bestimmungen zu  $\pm 3.0\%$  absolut errechnet ( $s =$

TABELLE I

PHOSPHORVERTEILUNG AUF CHROMATOGRAMMEN VON TESTGEMISCHEN

A = (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>P(S)(SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>); B = (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>P(S)(H); C = (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>O)<sub>2</sub>P(S)(SH).

Gemisch Nr.	Berechnet			Gefunden			Mittelwerte		
	Prozent des Gesamtphosphors liegen vor im Fleck von			liegen vor im Fleck von			(A)	(B)	(C)
	(A)	(B)	(C)	(A)	(B)	(C)	(A)	(B)	(C)
1	7.8	19.7	72.5	7.0	19.4	73.6	6.9	19.5	73.6
				6.6	20.3	73.1			
				7.0	19.0	74.0			
2	20.4	33.6	46.0	19.5	35.4	45.1	18.6	34.4	47.0
				16.0	35.3	48.7			
				20.4	32.6	47.0			
3	38.5	30.3	31.2	37.5	30.2	32.3	38.0	30.6	31.4
				37.1	31.0	31.9			
				39.5	30.6	29.9			
4	68.9	8.7	22.4	71.0	7.6	21.4	70.7	8.5	20.8
				71.1	9.1	19.8			
				70.0	8.7	21.3			

1.2 %; Wahrscheinlichkeit 95 %; t-Verteilung). Die Abweichungen bei Tabelle I liegen sämtlich innerhalb dieses Intervalls, die gefundenen Werte können als richtig betrachtet werden.

## BEMERKUNGEN UND HINWEISE

*Mineralisierung*

SMITH UND DIEHL<sup>2</sup> bezeichnen den Aufschluss mit Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch als ungefährlich. Eine in der Literatur beschriebene Explosion<sup>6</sup> liess sich auf einen Unterschuss an Perjodsäure beim Aufschluss zurückführen<sup>7</sup>. Wenn 15 ml Säuregemisch auf 1 g organische Substanz einwirken<sup>2</sup>, ist genug Perjodsäure vorhanden, um die Einwirkung heisser Perchlorsäure allein auf organische Substanz auszuschliessen. Nach der oben angegebenen Arbeitsvorschrift ist der Überschuss an Aufschlussmittel noch grösser als gefordert. Wir haben bisher ca. 3000 Aufschlüsse durchgeführt, und es ist nie eine Explosion aufgetreten.

Manchmal gelingt die Mineralisierung mit Perchlorsäure-Perjodsäure-Gemisch nicht, z.B. bei Substanzen mit mehreren Phosphor-Kohlenstoff-Bindungen. In solchen Fällen kann man mit heisser alkalischer Peroxodisulfatlösung<sup>8</sup> aufschliessen, zweckmässig in Polypropylenröhrchen<sup>9</sup>, weil die Phosphatbestimmung durch aus dem Glas stammendes Silikat gestört wird.

*Schichtmaterial*

Nicht jedes der handelsüblichen Aluminiumoxid-Präparate eignet sich für die quantitative Chromatogrammauswertung. Manchmal greift das Säuregemisch in der Hitze das Aluminiumoxid sehr rasch an, es entsteht ein dicker Brei, der sich schlecht schütteln lässt und heftig spritzt. Im Falle sauren Aufschlusses der phosphororga-

nischen Verbindungen können auch Kieselgel oder Gemische aus Kieselgel und Aluminiumoxid als Adsorbentien verwendet werden. Es ist dann aber nötig, als Blindlösung den sauren Auszug einer Leerzone des Chromatogramms zu verwenden<sup>10</sup>.

#### *Laufmittel*

Bei Verwendung gewisser Laufmittel kann es auf der Dünnschicht zu Reaktionen der zu trennenden Verbindungen kommen, als deren Folge systematische Fehler bei der quantitativen Auswertung auftreten. So fanden wir bei unverändert guter Reproduzierbarkeit Differenzen zwischen Mittelwert und Sollwert zum Teil weit ausserhalb der Vertrauensintervalls, als wir die Testgemische für Tabelle I mit  $\text{CCl}_4$  oder mit Aceton-Triäthylamin (10:1) als Laufmittel in zwei Fraktionen auftrennten. Veränderungen des relativ reaktionsfähigen Esters  $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}(\text{S})(\text{H})$  auf dem Chromatogramm wurden I.R.-spektroskopisch festgestellt.

#### *Zeitbedarf*

Für die Auswertung eines Chromatogramms mit vier Flecken benötigt man bei Serienbestimmungen *ca.* 40 Min. Die Aufgabe kann eingearbeiteten Hilfskräften übertragen werden.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen lässt sich die Methode besonders wegen der geringen Laufzeit der Dünnschichtchromatogramme für eine breitere Anwendung empfehlen, z.B. für die Verfolgung des zeitlichen Ablaufes bestimmter Reaktionen. Wir haben den Alkoholyseverlauf bei Tetraphosphorheptasulfid<sup>11</sup> und die Veresterungsgeschwindigkeit der Dialkyldithiophosphorsäureester<sup>12</sup> auf diese Art untersucht.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Die Verteilung des Phosphors auf Dünnschichtchromatogrammen kann bestimmt werden, obwohl die Rückgewinnung des Phosphors aus dem nicht gelösten Schichtmaterial nach der Mineralisierung phosphororganischer Verbindungen unvollständig ist. Bei Testgemischen aliphatischer Thiophosphorsäureester wurden die Verteilungswerte mit einer Standardabweichung von 1.2 % (abs.) gefunden. Die Mineralisierung wurde mit einem Gemisch von Perchlorsäure und Perjodsäure vorgenommen. Phosphat wurde nach der Vanadat-Methode bestimmt.

#### SUMMARY

The distribution of phosphorus on thin-layer chromatograms can be determined, although the recovery of phosphorus from undissolved layer material after mineralisation of organophosphorus compounds is incomplete. With test mixtures of aliphatic phosphorus thioesters distribution values with a standard deviation of 1.2 % (abs.) were found. Mineralisation was accomplished with a mixture of periodic and perchloric acid. Phosphorus was determined by the vanadate method.

#### LITERATUR

- 1 H. PETSCHIK UND E. STEGER, *J. Chromatog.*, 9 (1962) 307.
- 2 G. F. SMITH UND H. DIEHL, *Talanta*, 4 (1960) 185.
- 3 G. MISSON, *Chemiker-Ztg.*, 32 (1908) 633.
- 4 S. GERICKE UND B. KURMIES, *Z. Anal. Chem.*, 137 (1952) 15.

- 5 K. DOERFFEL, *Statistik in der analytischen Chemie*, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1966, S. 88.
- 6 J. THOMSON, *Talanta*, 8 (1961) 276.
- 7 G. F. SMITH, *Talanta*, 8 (1961) 364.
- 8 J. KOLMERTEN UND J. EPSTEIN, *Anal. Chem.*, 30 (1958) 1536.
- 9 R. B. LEW UND F. JAKOB, *Talanta*, 10 (1963) 322.
- 10 C. STEIN, unveröffentlichte Versuche.
- 11 H. PETSCHIK UND E. STEGER, *Angew. Chem.*, 76 (1964) 344; *Angew. Chem., Intern. Ed.*, 3 (1964) 314.
- 12 C. STEIN, E. STEGER UND H. PETSCHIK, zur Veröffentlichung vorbereitet.

*J. Chromatog.*, 31 (1967) 369-374