

CHROM. 8323

BEITRÄGE ZUR THEORIE DER ELEKTROPHORETISCHEN IONENFOKUSSIERUNG ANORGANISCHER IONEN MIT SCHWACHEN KOMPLEXBILDNERN*

FRANZ SCHÖNHOFER

Analytisches Institut der Universität Wien, Währingerstr. 38, A-1090 Wien (Österreich)

und

FRIEDRICH GRASS

Atominstitut der Österreichischen Hochschulen, Schüttelstr. 115, A-1020 Wien (Österreich)

(Eingegangen am 20. März 1975)

SUMMARY

On the theory of electrophoretic ionfocussing of inorganic ions with weak complexing agents

The effect of electrophoretic ionfocussing is found in instances where the conditions for the usual explanation are not fulfilled. A qualitative explanation for these instances is given, which takes into account the inhomogeneity of the electric field and explains the separation into very narrow adjacent zones by the principle of isotachophoresis.

EINLEITUNG

Wie bereits in einer früheren Arbeit¹ erwähnt wurde, treten bei der elektrophoretischen Ionenfokussierung mit schwachen Komplexbildnern Ergebnisse auf, die nicht mit Schumachers Theorie^{2,3} erklärt werden können. Nach Schumacher (die ausführliche Darstellung der Theorie wurde in Lit. 2 und 3 gegeben) wird auf einem Papierstreifen ein Komplexbildnerkonzentrationsgradient erzeugt (in der Praxis mit Hilfe eines pH-Gradienten). Ein unkomplexiertes Metallion Me^{x+} wandert so weit kathodisch in Richtung steigender Komplexbildnerkonzentration, wobei ständig die positive Durchschnittsladung abnimmt, bis die Komplexbildnerkonzentration ausreicht, dass ein negativer Metallkomplex MeX_n^{z-} gebildet wird und sich die Wanderungsrichtung umkehrt. Ein anionisches Metallkomplexion wandert so lange anodisch, bis die Komplexbildnerkonzentration zu klein wird und ein positives Ion gebildet wird, das in entgegengesetzter Richtung wandert. Eine sehr vereinfachte Darstellung ist in Fig. 1 gegeben. An jenem Ort des Trägers, an dem die beiden Teilchenflüsse gleich gross sind, werden die Metallionen angehäuft. Es ist leicht einzusehen, dass dieser Ort vom pK -Wert der Komplexbildung abhängt, sodass Ionen mit verschiedenen pK -Werten getrennt werden können. Die Verhältnisse werden dadurch

* Herrn Prof. Dr. K. Kratzl zum 60. Geburtstag gewidmet.

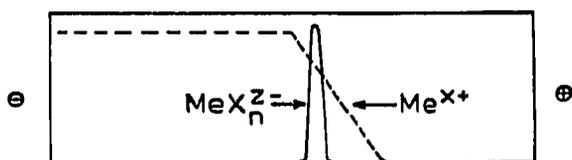


Fig. 1. ---, Komplexbildnerkonzentration; —, Gesamtmetallionenkonzentration nach der Fokussierung. MeX_n^{z-} , z -fach negativ geladener Metallkomplex; Me^{x+} , x -fach positiv geladenes Metallion.

kompliziert, dass protonierte Komplexe, Bikomplexe oder auch gemischte Komplexe auftreten können, worauf Friedli und Schumacher⁴ bereits hingewiesen haben.

WIDERSPRÜCHE ZUR THEORIE DER IONENFOKUSSIERUNG

Eine der wichtigsten Voraussetzungen ist das Vorhandensein einer genügend grossen Komplexbildnerkonzentration im Kathodenraum, sodass negative Komplexionen gebildet werden können.

Im Verlauf der in Lit. 1 beschriebenen Untersuchungen stellte sich bei Verwendung schwacher Komplexbildner heraus, dass die Ergebnisse nicht in der eben beschriebenen Weise gedeutet werden können. Die wichtigsten Tatsachen, die dagegen sprechen, andererseits aber zu einer Erklärung der Fokussierung führen, seien im folgenden angeführt.

Nach elektrophoretischen Untersuchungen von Buchtela und Grass⁵ ergibt α -Hydroxyisobuttersäure erst bei Konzentrationen von über 1.5 M und erhöhten pH-Werten bei gewöhnlicher Elektrophorese anodische Wanderungen von Seltenen Erden und Schwermetallionen als Folge der Bildung negativer Komplexe. Mit 0.3 M α -Hydroxyisobuttersäure von pH 3.5 konnten jedoch Trennungen von Schwermetallionen erzielt werden (Fig. 2).

Citronensäure kann bei höheren pH-Werten mit Schwermetallionen anionische Komplexe bilden, doch konnte in einer Versuchsreihe der pH-Wert einer 1 M Citronensäure bis auf 2 erniedrigt werden, ohne dass sich das Fokussierungsmuster wesentlich änderte. Mit 0.1 M Citronensäure von pH 2 kommt es ebenfalls zu Trennungen, obwohl dabei die Bildung anionischer Komplexe ausgeschlossen ist. Die Citronensäure liegt mit Ausnahme eines sehr geringen Anteils undissoziiert vor. (Eine gewöhnliche Elektrophorese, zur Kontrolle mit 1 M Citronensäure von pH 2.5 sowohl als Kathoden- als auch Anodenlösung ausgeführt, ergibt jedoch keine Trennung: ein Gradient ist also offensichtlich notwendig.) Versuche mit Citronensäure

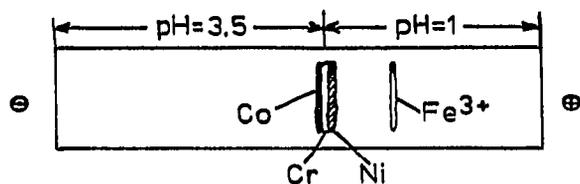


Fig. 2. Kathodenlösung, 0.3 M α -Hydroxyisobuttersäure (pH = 3.5); Anodenlösung, 0.1 M Salzsäure. 500 V, 30 min; Träger, Papier.

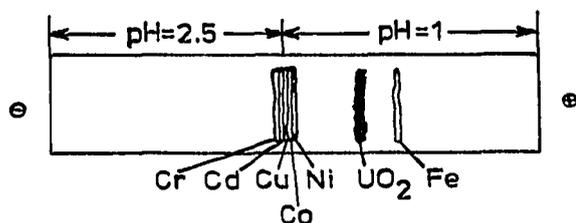


Fig. 3. Kathodenlösung, 1 M Citronensäure (pH = 2.5 eingestellt); Anodenlösung, 0.1 M Salzsäure. 400 V, 5 min; Träger, Papier.

auf Polyacrylamid- und Kieselgelsäulen sowie Kieselgeldünnschichten brachten gleiche Ergebnisse.

Es war auffällig, dass bei allen untersuchten α -Hydroxycarbonsäuren (Citronensäure, α -Hydroxyisobuttersäure, Weinsäure, Äpfel- und Milchsäure) die Trennmuster äusserst ähnlich waren; Co, Ni, Cu, Cr, Cd, Mn liegen stets unmittelbar aneinander anschliessend an einem äusserst scharfen pH-Sprung (durch Aufsprühen eines flüssigen pH-Universalindikators leicht feststellbar) und wandern mit fortschreitender Trennzeit langsam mit dem pH-Sprung zur Kathode. Fe wandert stets sehr scharf fokussiert, gefolgt vom deutlich abgesetzten UO₂, sehr langsam zur Anode. An ihren Fokussierungsstellen liegt kein pH-Gradient vor. (Fig. 3–5; die Zonen von Co, Ni, Cu, Cd, Cr, Mn sind in Wirklichkeit bedeutend schmaler, als sie in der Abbildung dargestellt werden können. Eine genaue Festlegung der Grenzen der pH-Gebiete ist daher problematisch.)

Werden Säuren ohne α -Hydroxycarbonsäurestruktur verwendet (Malonsäure, Maleinsäure), so kommt es in keinem Fall zu einer Fokussierung, womit als erwiesen gelten kann, dass eine etwas stärkere Komplexierung eine Rolle spielt, auch wenn die Bildung negativer Komplexe nicht möglich ist. Wird der Komplexzerstörer Salz-

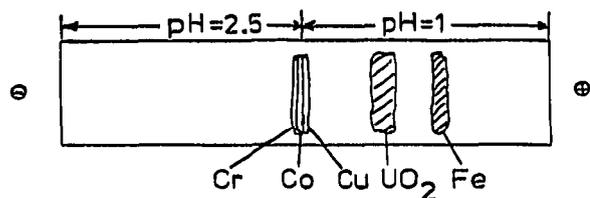


Fig. 4. Kathodenlösung, 1 M Weinsäure (pH = 2.5 eingestellt); Anodenlösung, 0.1 M Salzsäure. 400 V, 12 min; Träger, Papier.

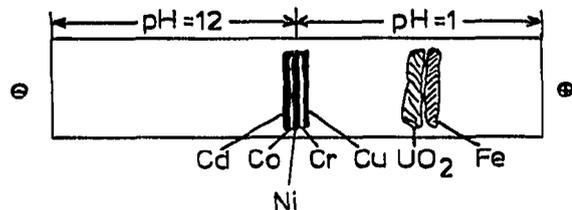


Fig. 5. Kathodenlösung, 0.1 M Äpfelsäure (pH = 12 eingestellt); Anodenlösung, 0.1 M Salzsäure. 300 V, 8 min; Träger, Papier.

säure durch Schwefelsäure ersetzt, so fokussieren bei gleichbleibender Komplexbildnerlösung zwar Cu, Co, Ni, Cr, jedoch nicht Fe und UO_2 .

Werden Cu und Cr oder Ni und Cr mit Citronensäure fokussiert, so liegen die Fokussierungslinien ganz eng beieinander. Wird nachträglich Co zugefügt (der Versuch wird am einfachsten auf Papier oder Kieselschicht ausgeführt), so wandert dieses unabhängig vom Auftragungsort zwischen Cu und Cr bzw. Ni und Cr und "schiebt" sie auseinander. Die Breite des Co-Fokus ist dabei proportional der Co-Menge. Dieser Effekt ist nicht notwendigerweise ein Widerspruch zur Theorie Schumachers, da er auch auftreten kann, wenn eine makroskopische Menge den pH-Gradienten stört, doch es wird (in Auftrennung in Zonen — Isotachophorese) gezeigt, dass damit die Trennung auch in jenen Fällen erklärt werden kann, in denen die Bildung negativer Komplexe und damit die Schumachersche Theorie ausgeschlossen ist.

Bei der Ableitung der ausführlichen Theorie³ wurde von Schumacher eine Reihe von Voraussetzungen getroffen, von denen in der Praxis kaum eine erfüllbar ist. So zum Beispiel: "Eine verdünnte Lösung in einem inerten Elektrolyten, homogenes und stationäres Feld, keine konvektiven Strömungsfelder, Vernachlässigung der interionischen Wechselwirkungen, ...". Eine diesbezügliche Betrachtung findet sich in Lit. 3. Die Form des Gradienten würde sich aus der Behandlung der elektrischen Wanderung einer Vielzahl von Ionen ergeben, was kaum möglich ist, und ist nicht streng stationär realisierbar. Da aber die Trennung von der Form des Gradienten abhängt, ist anzunehmen, dass die Wanderung der Ionen im elektrischen Feld für die Trennung von höchster Bedeutung ist. Wir werden darauf zurückkommen.

Besonders wichtig ist, dass das elektrische Feld im Trennbereich nicht homogen ist. So wurde von Schumacher und Streiff⁶ die Feldstärke in den Systemen Natriumacetat-Salzsäure, Nitrilotriessigsäure-Salzsäure und Äthylendiamintetraessigsäure-Salzsäure gemessen, aus denen hervorgeht, dass Variationen um mehr als das zwanzigfache auftreten — bedingt durch die Bildung und Anhäufung von undissoziierter Komplexbildnersäure in einer breiten Zone. Ausserhalb dieser Zone beträgt die Feldstärke bei einer Gesamtspannung von 500 V höchstens einige Volt pro Zentimeter. Der kathodenseitige Feldabfall fällt mit dem pH-Sprung zusammen (Fig. 6).

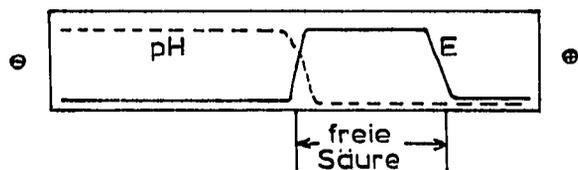


Fig. 6. Feld- und pH-Verlauf bei der elektrophoretischen Ionenfokussierung mit schwachen Komplexbildnern nach längerer Trennzeit (schematisch).

FOKUSSIERUNG UND STATIONÄRER ZUSTAND

Die Tatsache des stark inhomogenen Feldes nehmen wir zum Ausgangspunkt einer Interpretation der erhaltenen Versuchsergebnisse und entwickeln im folgenden eine Erklärung des Fokussierungseffektes, wenn keine anionischen Komplexe möglich sind.

Einfluss des inhomogenen Feldes

Wenn Ionen aus dem Gebiet sehr hoher in ein Gebiet sehr niedriger Feldstärke eintreten, so werden sie abgebremst und dabei auf eine schmale Zone zusammengedrängt. Diese Möglichkeit der nichtstationären Konzentrierung von Ionen wurde ebenfalls von Schumacher³ erwähnt, doch können wir nicht seiner Ansicht zustimmen, dass sich diese Ionen auf dem Weg normaler Elektrophorese voneinander trennen können. Alle von uns durchgeführten Versuche, bei denen die Bedingungen nicht für eine elektrophoretische Ionenfokussierung ausreichen (zu niedrige Komplexbildneranionenkonzentration) zeigen keine Trennung entsprechend einer normalen Elektrophorese (z.B. Fig. 2–5). Insbesondere bleiben die Ionen stets ganz eng am pH-Sprung und damit am Übergang vom grossen zum kleinen Feld fokussiert —unabhängig von der Zeit, was bei Annahme einer normalen Elektrophorese nach erfolgter Fokussierung unmöglich ist. Ausserdem müsste bei normaler Elektrophorese eine enorme Zonenverbreiterung durch Diffusion erfolgen.

Wanderungsgeschwindigkeit — Stationärer Zustand

Wie bereits erwähnt, herrscht bei einer angelegten Gesamtspannung von 500 V ausserhalb der Zone hoher Feldstärke ein Spannungsgefälle von nur einigen Volt pro Zentimeter. Eine einfache Rechnung ergibt, dass bei einer Beweglichkeit von 50 cm²/Ohm bei einer Feldstärke von 1 V/cm eine Wanderungsgeschwindigkeit von ungefähr 0.3 mm/min (18 mm/h) resultiert. Da diese Wanderungsgeschwindigkeit sehr klein ist und, wie im folgenden gezeigt wird, die wirkliche Geschwindigkeit infolge Komplexierung noch erheblich darunter liegt, kann dies bei kurzen Trennzeiten von einigen Minuten, wie sie meist angewendet werden, den Eindruck eines stationären Zustandes vortäuschen. Bei unseren meist länger dauernden Versuchen konnte eine sehr langsame Verschiebung festgestellt werden.

Gleichzeitig verschiebt sich aber auch der pH-Gradient und damit die Zone hoher Feldstärke kathodenwärts, da es durch den praktisch unbegrenzten Nachschub an Komplexbildner und -zerstörer zu einer fortgesetzten Ablagerung von freier Komplexbildnersäure und damit zu einer beiderseitigen Verbreiterung der Zone hoher Feldstärke kommt. Die Verschiebung des Feldstärkesprunges ist damit für die Wanderungsgeschwindigkeit der Metallionen massgeblich.

Einfluss des Komplexbildners

Wenn die Kationen in die Zone niedriger Feldstärke einwandern, so treffen sie auf die Anionen der Komplexbildner. Reicht die Konzentration der Anionen zur Bildung negativer Komplexe aus, so ist ein Mechanismus nach Schumacher durchaus denkbar. Reicht die Konzentration (wie in unseren hier betrachteten Fällen) jedoch nicht aus, so werden die Kationen zumindest zum Teil komplexiert. Durch die damit bewirkte Erniedrigung der durchschnittlichen positiven Ladung wird die Beweglichkeit zusätzlich erniedrigt. Damit im Einklang steht, dass die von uns untersuchten organischen Säuren ohne α -Hydroxycarbonsäurestruktur (Malonsäure, Maleinsäure) keine Fokussierungen geben. Die stärkere Komplexbildung spielt also offensichtlich eine wesentliche Rolle.

Dochteffekt

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, dass auf Papier und Dünnschichten

bei der Elektrophorese der bekannte Dochteffekt auftritt (bei Verwendung im flüssigen Kühlmittel fällt er nicht ins Gewicht), der praktisch auch einen Gegenstrom zur Wanderungsrichtung der Kationen darstellt und diese weiter abbremst. Der Dochteffekt tritt bei Polyacrylamidgel nicht auf, auf diesem Träger wurden aber ebenfalls Fokussierungen durchgeführt. Dieser Effekt scheint daher eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Wir glauben, mit diesen Argumenten, die durch die Experimente erhärtet werden, die Möglichkeit der Fokussierung und eines angenähert stationären Zustandes auch ohne Bildung negativer Komplexe hinlänglich bewiesen zu haben.

AUFTRENNUNG IN ZONEN — ISOTACHOPHORESE

An den Versuchen ist besonders auffällig, dass z.B. die Ionen Cu, Mn, Ni, Cd, Cr, Co (z.B. Fig. 2–5) stets ohne jeden Zwischenraum direkt aneinander fokussiert sind. Es wurde schon berichtet, dass nachträglich zugefügtes Co bereits aneinander fokussiertes Cu und Cr bzw. Ni und Cr auseinanderschiebt und dass die Breite des Co-Fokus proportional der Menge ist. Diese Erscheinungen weisen grosse Ähnlichkeit mit Trennmustern auf, die nach der Methode der Isotachophorese gewonnen werden.

Bei der Isotachophorese wird auf einen Träger kathodenseitig eine Lösung mit einem Kation mit grosser Beweglichkeit ("leading ion"), anodenseitig eine Lösung mit einem Kation kleiner Beweglichkeit ("trailing ion") aufgebracht. Fügt man zwischen diese beiden Lösungen ein Gemisch von Kationen zu, deren Beweglichkeiten dazwischenliegende Werte besitzen, so wandern nach dem Anlegen der Spannung sämtliche Kationen zur Kathode und trennen sich voneinander in der Reihenfolge ihrer Beweglichkeiten in dicht aneinander anschliessende Zonen. Die Konzentration eines jeden Ions in seiner Zone ist durch die Regulationsfunktion (\bar{W}) nach Kohlrausch⁷ gegeben:

$$\bar{W} = \sum_i \frac{c_i}{u_i} = \text{const.}$$

wobei c_i die Konzentration und u_i die Beweglichkeit des Ions i darstellen. Eine schematische Darstellung wird in Fig. 7a gegeben.

Das Prinzip der Isotachophorese ist zur Trennung von sowohl Kationen⁸ als auch Anionen^{9,10} verwendbar. Wird zu zwei Kationen eines mit dazwischenliegender Beweglichkeit zugefügt, so schiebt es sich zwischen die beiden betreffenden Kationen. Solche Kationen, auch "spacer" genannt, wurden von Wiedemann und Vestermark^{11,12} zur Trennung anorganischer Ionen und auch Isotopen benutzt.

Die von uns erhaltenen Trennmuster können ebenfalls nach dem Konzept der Isotachophorese erklärt werden: Die Rolle des leading ion (Ion mit grosser effektiver Beweglichkeit) kann in Lösungen niedriger pH-Werte dem H_3O^+ zugeschrieben werden (K_1 in Fig. 7), andererseits steht in Lösungen hohen pH-Wertes etwa in Na^+ (z.B. in Lösungen von Natriumcitrat) ebenfalls ein Ion hoher Beweglichkeit zur Verfügung. Die darauffolgenden Kationen K_1, K_2, \dots sind dann positive Metallkomplexionen. Es sei in diesem Zusammenhang an den oben beschriebenen Einfluss des Komplexbildners erinnert. Dass nicht nur positive Metallionen hier beteiligt sind, geht auch daraus hervor, dass in verschiedenen Komplexbildnern die

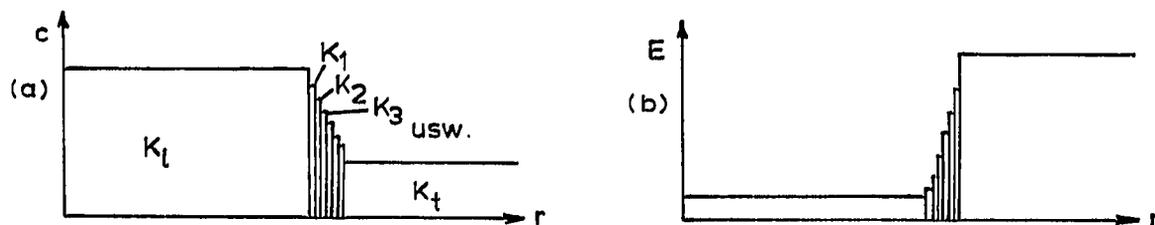


Fig. 7. K , Kation; K_l , "leading ion"; K_1, K_2, K_3 usw., "trailing ion". $u_1 > u_l > u_2 > u_3 \dots > u_t$; c , Konzentration; E , Feldstärke.

Reihenfolge der Fokussierungen etwas verändert ist (vgl. Fig. 2–5), während sie beim gleichen Komplexbildner beliebig oft reproduzierbar ist. Es scheint jedoch aussichtslos, Mutmassungen über die Art der Komplexe anzustellen, da nicht nur zuwenig Daten über die in Frage kommenden Komplexgleichgewichte bekannt sind, sondern auch über die an den betreffenden Stellen herrschenden Konzentrationen, pH-Werte und Aktivitätskoeffizienten nichts ausgesagt werden kann. Die Fokussierungslinien sind so schmal, dass pH- und besonders Komplexbildnerkonzentrationsmessungen innerhalb einer Zone kaum vorgenommen werden können.

Als trailing ion (Ion mit kleiner effektiver Beweglichkeit) fungiert ebenfalls H_3O^+ . Nach dem Anlegen der Spannung beginnt sich nämlich freie Säure abzulagern, in der die Dissoziation und damit auch die effektive Beweglichkeit von H_3O^+ äusserst gering ist. Damit sind beide Voraussetzungen für die Isotachophorese ("schnelles" und "langsameres" Ion) erfüllt.

Aus der schematischen Darstellung der Konzentrationen in Fig. 7a lässt sich eine entsprechende Feldverteilung ableiten, die in Fig. 7b gegeben ist. Ein Vergleich mit dem kathodenseitigen starken Spannungsabfall bei unseren Versuchen (Fig. 6) zeigt eine prinzipielle Übereinstimmung.

Während bei der Isotachophorese die angegebene Feldverteilung während der Trennung in die einzelnen Zonen entsteht, wird sie bei unseren Versuchen primär durch die gleichzeitige Ausbildung des pH-Gradienten erzeugt. Dabei sollte ein Auftragen der Ionen auf der sauren Seite, um ein Ausfallen zu verhindern, nahe dem Ort, an dem die beiden Elektrodenlösungen zusammentreffen, für eine möglichst schnelle Fokussierung günstig sein. Dies wird durch die experimentelle Erfahrung bestätigt.

FOKUSSIERUNG VON Fe^{3+} UND UO_2^{2+}

Wie bereits erwähnt wurde (und aus den Fig. 2–5 ersichtlich ist) verhalten sich Fe und UO_2 abweichend von den anderen bisher untersuchten Metallionen. Fe wandert ausgezeichnet und UO_2 (meist weniger gut fokussiert) äusserst langsam zur Anode. Dieses Verhalten ist aber an die Verwendung von Salzsäure als Anodenlösung gebunden; beide Ionen werden bei Verwendung von Schwefelsäure nicht fokussiert.

Fe bildet mit den untersuchten α -Hydroxycarbonsäuren recht stabile Komplexe. Wir nehmen an, dass anionische gemischte Chlorkomplexe gebildet werden. Dem von Schumacher angegebenen Mechanismus steht entgegen, dass an den Fokussierungsstellen des Fe und UO_2 kein pH-Gradient vorliegt. Eine Fokussierung am anodenseitigen Übergang von hohem zu niedrigem Feld analog zu den Verhältnissen

bei der Fokussierung von Cu, Co, Cr... am kathodenseitigen Übergang wäre denkbar (Fig. 6). Dagegen spricht jedoch, dass Fe und UO_2 deutlich voneinander getrennt sind. Dieses Verhalten wird noch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich eine Erklärung für den elektrophoretischen Fokussierungseffekt, die in jenen Fällen gültig ist, in denen die Voraussetzungen für eine Erklärung, wie sie von Schumacher angegeben wurde, nicht gegeben sind. Ein Mechanismus nach Schumacher ist bei hohen Komplexbildneranionenkonzentrationen durchaus möglich, doch nehmen wir an, dass auch in diesen Fällen das Wanderungsverhalten der Komplexe und vor allem die Feldinhomogenität eine weitaus grössere Rolle spielen, als bisher angenommen wurde.

DANK

F.S. dankt Herrn B. Wiedemann (Kungliga Tekniska Högskola, Stockholm) für eine ausführliche Diskussion.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Effekt der elektrophoretischen Ionenfokussierung tritt auch in Fällen auf, in denen die Voraussetzungen für die bisher übliche Interpretation nicht gegeben sind. Es wird hier eine qualitative Erklärung für diese Fälle angegeben, die für die Fokussierung die auftretende Feldinhomogenität berücksichtigt und die nachfolgende Trennung in sehr scharfe aneinanderliegende Zonen auf das Prinzip der Isotachophorese zurückführt.

LITERATUR

- 1 F. Schönhofer und F. Grass, *Mikrochim. Acta*, (1975) 89.
- 2 E. Schumacher, *Helv. Chim. Acta*, 40 (1957) 221.
- 3 E. Schumacher, *Helv. Chim. Acta*, 40 (1957) 2322.
- 4 W. Friedli und E. Schumacher, *Helv. Chim. Acta*, 44 (1961) 1829.
- 5 K. Buchtela und F. Grass, unveröffentlichte Resultate.
- 6 E. Schumacher und H. J. Streiff, *Helv. Chim. Acta*, 41 (1958) 842.
- 7 F. Kohlrausch, *Ann. Phys.*, 62 (1897) 209.
- 8 J. L. Beckers und F. M. Everaerts, *J. Chromatogr.*, 68 (1972) 207.
- 9 E. Schumacher und T. Studer, *Helv. Chim. Acta*, 47 (1964) 957.
- 10 J. L. Beckers und F. M. Everaerts, *J. Chromatogr.*, 69 (1972) 165.
- 11 A. Vestermark und B. Wiedemann, *Nucl. Instrum. Methods*, 56 (1967) 151.
- 12 B. Wiedemann und A. Vestermark, *Radiochem. Radioanal. Lett.*, 6 (1971) 287.