

Institut für Anorganische und Analytische Chemie der Phil.-Theol. Hochschule,  
Regensburg, und  
Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung München

## Trennung von Phosphaten durch Papierelektrophorese

### V. Hochspannungspapierelektrophorese kondensierter Phosphate und Metaphosphate\*

Von

BRUNO SANSONI und LUDWIG BAUMGARTNER

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 18. Februar 1957)

Verschieden hoch kondensierte Phosphate und Metaphosphate können trotz großen wissenschaftlichen und technischen Interesses nach klassischen Methoden nicht vollständig getrennt werden. Erst durch Anwendung der Papierchromatographie ist kürzlich EBEL<sup>4a,b</sup> sowie WESTMAN u. CROWTHER<sup>3a,b,c,d</sup> die Trennung gelungen. Die Methode hat sich inzwischen vielfach sehr gut bewährt<sup>4a,b,5,8a,b,9,11,15</sup>. Höhermolekulare Phosphate können jedoch nicht getrennt werden; ferner ist ein günstigeres Medium für empfindliche Anionen und eine Herabsetzung der bisher mindestens 14 Std dauernden Versuchszeit erwünscht. Unabhängig davon haben SANSONI u. KLEMENT Unterschiede der papierelektrophoretischen Beweglichkeit der Phosphatanionen zu Trennungen ausgenützt. Unter anderem wurden einzelne höhermolekulare kondensierte Phosphate analytisch<sup>16</sup> und mikropräparativ<sup>17</sup> untereinander getrennt. Die Versuchsbedingungen lagen mit  $p_H$  8 oder 10 im Bereich maximaler Beständigkeit der Phosphatanionen, die Arbeitszeiten betragen 3 und 4 Std. Die Untersuchungen erfolgten nach der Niederspannungsmethode von GRASSMANN u. HANNIG in der Apparatur „Elphor H“ bei 110 Volt und der kontinuierlichen Methode der gleichen Autoren in „Elphor Va“ mit 42 Auffanggläschen bei 300 Volt.

Im folgenden wird über die Anwendung der Hochspannungspapierelektrophorese bei 10000 Volt berichtet. Sie ist analytisch von den untersuchten Elektrophoresemethoden für kondensierte Phosphate vielleicht am interessantesten. Die Hochspannungspapierelektrophorese<sup>12,20,21</sup> ist im Zusammenhang mit biochemischen Problemen erst vereinzelt zur Trennung anorganischer Ionen, nämlich  $Cu^{II}/Zn^{II}$ <sup>12</sup>,  $Cu^{II}/Cd^{II}/Pb^{II}/Co^{II}/Fe^{II}/Fe^{III}$ <sup>20</sup>,  $ClO^-/ClO_2^-/ClO_3^-$ ,  $ClO_3^-/BrO_3^-/JO_4^-$ , verwendet worden.

\* Vorläufige Mitteilung XV. Internationaler Kongreß für Reine und Angewandte Chemie, Lissabon 1956, Referatenband S. 222 (B. SANSONI).

I. bis IV. Mitteilung vgl. <sup>16,14,17</sup> und B. SANSONI, *Angew. Chem.* **67**, 327 (1955).

*Z. anal. Chem.*, Bd. 158

### 1. Methode

Das auf einem mit Pufferlösung getränkten Papierstreifen aufgetragene Gemisch der Phosphatanionen wandert unter dem Einfluß des angelegten elektrischen Feldes und trennt sich bei genügend unterschiedlicher Beweglichkeit in einzelne Zonen auf. Im Gegensatz zur Niederspannungsmethode stehen bei nur 20 bis etwa 80 min Arbeitszeit lange Wegstrecken bis zu 1 m für Trennungen zur Verfügung. Die bei kleinen anorganischen Ionen besonders starke Diffusion und damit Verbreiterung der wandernden Zonen wird bei der Hochspannungsmethode durch die stark verkürzte Arbeitszeit und den nur mäßig feuchten Papierstreifen wesentlich vermindert. Durch die konstanten Versuchsbedingungen sind die Wanderungsgeschwindigkeiten der einzelnen Ionen relativ gut reproduzierbar. Schließlich ermöglicht die kurze Versuchsdauer die Untersuchung auch instabilerer Phosphatgemische und die Anwendung der Methode zur Betriebskontrolle. — Der apparative Aufwand ist allerdings sehr hoch.

Zur Charakterisierung eines Ions bei der Papierelektrophorese genügt die Angabe seiner *absoluten* Wanderungsgeschwindigkeit nicht, da diese bei gegebenem  $p_H$ -Wert stark von der angelegten Spannung, der Papiersorte und mehr oder weniger von sonstigen schwankenden Versuchsbedingungen abhängt. Für die kontinuierliche Methode sind am Beispiel kondensierter Phosphate<sup>17</sup> jedoch befriedigend konstante Werte für die *relativen*, auf die Geschwindigkeit eines bei jedem Versuch mitlaufenden Ions bezogenen Wanderungsgeschwindigkeiten gefunden worden. Sie sollen in Anlehnung an die  $R_f$ -Werte der Papierchromatographie als  $R_e$ -Werte (in<sup>17</sup> noch  $R_B$ ) bezeichnet werden. Wie insbesondere vorliegende Arbeit zeigt, hängt der  $R_e$ -Wert eines Ions teilweise stark von der verwendeten Papierelektrophoresemethode ab. Daher sind für jede Methode gesonderte  $R_e$ -Werte notwendig, welche für die kontinuierliche durch vorangestelltes  $k$  ( $R_{ke}$ ) und für die Hochspannungsmethode durch vorangestelltes  $h$  ( $R_{he}$ ) gekennzeichnet werden sollen:

$$\begin{aligned}
 R_{he} &= \frac{\text{Wanderungsgeschwindigkeit des Ions}}{\text{Wanderungsgeschwindigkeit des Bezugs-Ions}} \\
 &= \frac{\text{Laufstrecke des Ions}}{\text{Laufstrecke des Bezugs-Ions } I} = \frac{u \cdot E \cdot t}{u_I \cdot E \cdot t} = \frac{u}{u_I}; \\
 R_{ke} &= \frac{\text{Tangens des Ablenkungswinkels des Ions}}{\text{Tangens des Ablenkungswinkels des Bezugs-Ions } I} \\
 &= \frac{\text{tg } \alpha}{\text{tg } \alpha_I} = \frac{u \cdot E \cdot s_I}{u_I \cdot E \cdot s} = \frac{u \cdot s_I}{u_I \cdot s}, \text{ vereinfacht sich für niedermolekulare Ionen mit } s \approx s_I \text{ zu} \\
 &= u/u_I \text{ (nach}^{17}\text{)}.
 \end{aligned}$$

Hierin bedeuten  $R_e$  die relative papierelektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit nach der jeweiligen Methode,  $u$  die über die gesamte Versuchsdauer gemittelte papierelektrophoretische Ionenbeweglichkeit nach der jeweiligen Methode [ $\text{cm}^2/\text{h} \cdot \text{Volt}$ ],  $E$  die elektrische Feldstärke [ $\text{Volt}/\text{cm}$ ],  $t$  die Versuchsdauer [h],  $I$  das Bezugs-Ion,  $\alpha$  den Ablenkungswinkel des Ions bei der kontinuierlichen Methode [Grad] und  $s$  die vertikale Komponente der Wanderungsgeschwindigkeit bei der

kontinuierlichen Methode [cm/h]. — Bei der Hochspannungsmethode hängt  $R_{he}$  außerdem noch vom Feuchtigkeitsgehalt des Papierstreifens ab<sup>13</sup>, so daß dieser zusammen mit dem  $p_H$ -Wert angegeben werden muß.

## 2. Experimentelles

*Apparatur.* Es wurde die in Abb. 1 wiedergegebene Hochspannungselektrophoresekammer<sup>2</sup> verwendet. Der Filtrierpapierstreifen liegt auf einer siliconisierten Glasplatte und wird mit einer ebensolchen bedeckt. Die Deckglasplatte drückt man mit Holzklammern leicht auf die Unterlage, damit der Filtrierpapierstreifen über

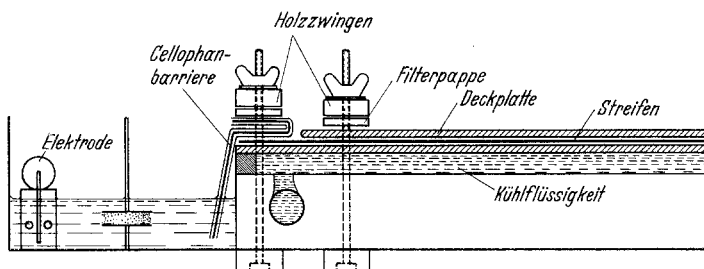


Abb. 1. Hochspannungspapierelektrophoresekammer im Längsschnitt<sup>2</sup>

die ganze Fläche gleichmäßig auf der Kühlplatte aufliegt. Die untere Glasplatte wird mit Kühlflüssigkeit unterspült; die Unterbindung des Puffersoges erfolgt durch Cellophanmembranen.

*Pufferlösung und Reagentien.* Es wird der Natriumborat-Natronlauge-Puffer für  $p_H$  10 nach<sup>10</sup> hergestellt und 1 Volumteil davon mit 2 Volumteilen destilliertem Wasser verdünnt. Das Anfärbereagens erhält man nach<sup>14</sup> durch Vermischen von 1 Volumteil wäßriger 5%iger Perchlorsäure mit 1 Volumteil wäßriger 1%iger Ammoniummolybdatlösung und läßt es vor Gebrauch einige Tage stehen.

Die verwendeten Phosphate wurden röntgenographisch und eindimensional papierchromatographisch mit saurem (Nr. I) und alkalischem (Nr. III) Lösungsmittel nach<sup>8a, b</sup> auf ihre Reinheit geprüft:  $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$  (SØRENSEN, Merck),  $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$  (p. a. Merck),  $Na_5P_3O_{10} \cdot 6H_2O$  (Spur Diphosphat),  $(Na_2PO_3)_3 \cdot 6H_2O$  rein,  $(NaPO_3)_4 \cdot 4H_2O$  nach<sup>1</sup> (papierchromatographisch nicht wandernde Verunreinigung und Spur Diphosphat), Grahamsches Salz ( $Na_2O/P_2O_5 = 0,9956$ , aus As-freiem Trimetaphosphat; 2 Jahre unter Verschuß aufbewahrt) (wenig Trimeta-, Tetrameta- und wahrscheinlich Triphosphat), Kurrolsches Salz hochviskos (Albert) (wenig Monophosphat; NaCl als Lösungsvermittler zugesetzt), Bromphenolblau (Merck). Es wurden jeweils 0,01 m-Lösungen, vom Grahamschen bzw. Kurrolschen Salz 1—3%ige wäßrige Lösungen frisch bereitet, mit einem Tropfen wäßriger Bromphenolblaulösung angefärbt und aus einer 0,01 ml-Mikropipette aufgetragen.

*Arbeitsvorschrift.* Ein 90 cm langer und 10 cm breiter Filtrierpapierstreifen Schl. & Sch. 2043 a MGL wird mit Pufferlösung getränkt und mittels einer Walzenpresse soweit von überschüssigem Puffer befreit, daß der Flüssigkeitsgehalt des Streifens 110% seines Trockengewichtes beträgt<sup>2,20</sup>. Dann wird er auf eine Glasplatte gelegt und die mit dem Bezugs-Ion (Bromphenolblau) vermischte Analysenlösung auf der Kathodenseite mit der Mikropipette in Form eines Querstriches aufgetragen. Die Mikropipette wird zur besseren Führung an einer auf 2 Korkscheiben aufgeklebten kleinen Glasplatte entlangeleitet. Man verwendet durchschnittlich etwa 10—100  $\mu g$  Phosphat. Der so vorbereitete Streifen wird nach

Abb. 1 in die Kammer eingelegt. Dann stellt man die Soleumlaufpumpe an und regelt den Gleichrichter auf die gewünschte Spannung (bis zu 10000 Volt, etwa 80 Volt/cm). Die Kühltemperatur richtet sich nach der Ionenstärke des Puffers und der Feldstärke, im allgemeinen wird sie ungefähr  $-5^{\circ}\text{C}$  betragen. Bei tieferen Temperaturen friert der Streifen ein und taut nur langsam wieder auf, bei zu hoher Temperatur erwärmt er sich zu stark und brennt schließlich durch. Nach Beendigung des Versuches wird der Streifen aus der Kammer genommen, getrocknet, mit Anfärbereagens besprüht und im Trockenschrank vorsichtig entwickelt. Die einzelnen Zonen werden unter UV-Licht mit Bleistift markiert und zusätzlich nach<sup>14</sup> durch Sonnen- oder UV-Licht sichtbar gemacht. Es ist zu beachten, daß manchmal einzelne Zonen erst nach einiger Zeit erscheinen. Zuletzt mißt man die durchwanderten Strecken von der Auftragslinie bis zum Schwerpunkt der Zonen und berechnet die  $R_{\text{he}}$ -Werte.

### 3. Ergebnisse

Die Abb. 2—11 enthalten eine Auswahl der Versuchsergebnisse. Auffallend wenig wandert Diphosphat (Abb. 4, 7, 8). Monophosphat bildet

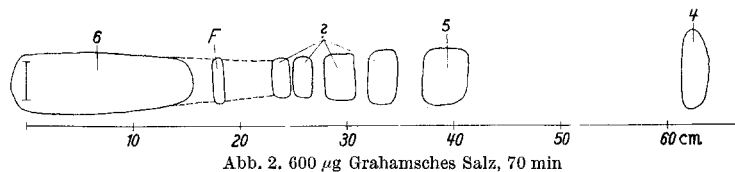


Abb. 2. 600  $\mu\text{g}$  Grahamsches Salz, 70 min

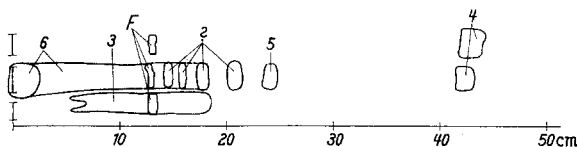


Abb. 3. Oben 15  $\mu\text{g}$  Trimetaphosphat, Mitte 100  $\mu\text{g}$  Grahamsches Salz, unten 25  $\mu\text{g}$  Triphosphat 53 min

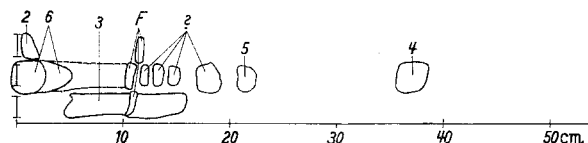


Abb. 4. Oben 25  $\mu\text{g}$  Diphosphat, mittlen 100  $\mu\text{g}$  Grahamsches Salz, unten 25  $\mu\text{g}$  Triphosphat, 45 min

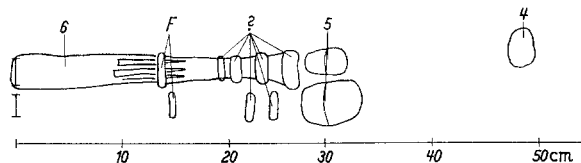


Abb. 5. Oben 300  $\mu\text{g}$  Grahamsches Salz, unten 70  $\mu\text{g}$  Tetrametaphosphat, 4000 V, 4 Milliamp, 80 min

Abb. 2—11. Trennungen verschiedener Phosphatanionen. Wenn nicht anders angegeben, sind die Versuchsbedingungen: 10000 V, 8—10 Milliamp, Borat/NaOH-Puffer  $\text{pH}$  10 (nach<sup>10</sup>), Feuchtigkeit der Papierstreifen 110% des Trockengewichtes. Bezeichnung der einzelnen Fraktionen: 1 Monophosphat, 2 Diphosphat, 3 Triphosphat, 4 Trimetaphosphat, 5 Tetrametaphosphat, 6 Grahamsches Salz (höhermolekulare Hauptkomponente), 7 Kurrolsches Salz hochviscos (höhermolekulare Hauptkomponente), F Farbstoff Bromphenolblau als Bezugslin

ein schwaches und stark diffuses Band, das von der Auftragstelle an sehr langgezogen ist (Abb. 7). Das höhermolekulare Grahamsche und das ebenfalls höhermolekulare Kurrolsche Salz ergeben von der Startlinie an ein langgezogenes kräftiges Band, das besonders bei dem ersten häufig ohne scharfen Übergang ausläuft (Abb. 2, 3, 4, 5, 10, 11).

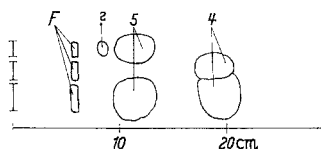


Abb. 6. Oben 10  $\mu\text{g}$  Tetrametaphosphat, Mitte 15  $\mu\text{g}$  Trimetaphosphat, unten 15  $\mu\text{g}$  Trimeta-/10  $\mu\text{g}$  Tetrametaphosphat, 27 min

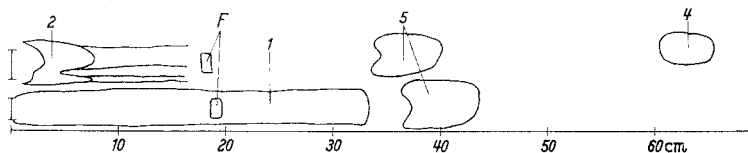


Abb. 7. Oben 45  $\mu\text{g}$  Di-/45  $\mu\text{g}$  Trimeta-/30  $\mu\text{g}$  Tetrametaphosphat, unten 45 Mono-/45  $\mu\text{g}$  Tetrametaphosphat, 75 min

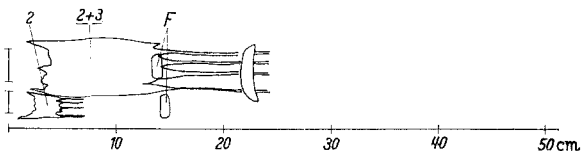


Abb. 8. Oben 25  $\mu\text{g}$  Di-/40  $\mu\text{g}$  Triphosphat, unten 25  $\mu\text{g}$  Diphosphat, 80 min, 8000V, 7 Milliamp.

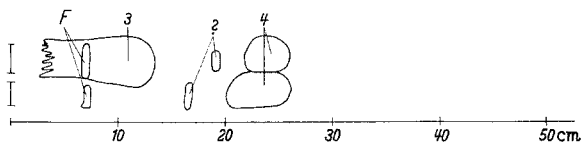


Abb. 9. Oben 40  $\mu\text{g}$  Triphosphat (Lösung 1 Tag alt)/20  $\mu\text{g}$  Trimetaphosphat, unten 30  $\mu\text{g}$  Trimetaphosphat, 45 min, 8000 V, 6 Milliamp.

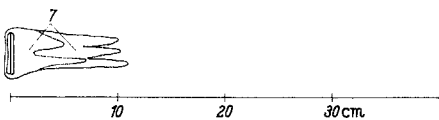


Abb. 10. 200  $\mu\text{g}$  Kurrolsches Salz hochviscos (Hauptkomponente) + Lösungsvermittler NaCl p. a., 140 min

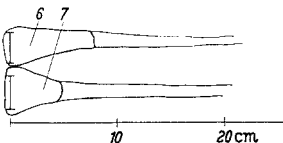


Abb. 11. Oben 100  $\mu\text{g}$  Grahamsches Salz (Hauptkomponente), unten 100  $\mu\text{g}$  Kurrolsches Salz hochviscos (Hauptkomponente) + Lösungsvermittler NaCl p. a., 120 min

Folgende Trennungen sind vollständig: Monophosphat/Trimetaphosphat, Monophosphat/Tetrametaphosphat, Diphosphat/Triphosphat, Diphosphat/Trimetaphosphat, Diphosphat/Tetrametaphosphat, Triphosphat/Grahamsches Salz (stets Hauptkomponente), Triphosphat/Kurrolsches Salz niedrigviscos (stets Hauptkomponente), Triphosphat/Kurrolsches Salz hochviscos, Triphosphat/Trimetaphosphat, Triphosphat/Tetrametaphosphat, Grahamsches Salz/Trimetaphosphat, Grahamsches Salz/Tetrametaphosphat, Kurrolsches Salz niedrig- oder hochviscos/Tetrametaphosphat, Trimetaphosphat/Tetrametaphosphat. Diphosphat oder Grahamsches Salz/Triphosphat/Trimetaphosphat/Tetrametaphosphat, Kurrolsches Salz niedrig- oder hochviscos/Triphosphat/Trimetaphosphat/Tetrametaphosphat. Das Ergebnis dieser Trennungen ist teilweise in den Abb. 2—11 enthalten.

Überraschend ist die Auftrennung des ungereinigten Grahamschen Salzes in deutlich 7—8 Fraktionen (Abb. 2), von denen nur Trimeta-, Tetrametaphosphat und die höhermolekulare Hauptkomponente identifiziert werden konnten.

#### 4. Diskussion

Die relativen Wanderungsgeschwindigkeiten der Phosphate sind bei hohen Spannungen zum Teil ganz anders als bei niedrigen. Das zeigt deutlich ein Vergleich der beiden ersten Methoden von Tab. 1, in welcher die Anionen nach abnehmenden relativen Wanderungsgeschwindigkeiten angeordnet sind. Die  $R_{he}$ -Werte der Hochspannungsmethode liegen für Trimetaphosphat wesentlich höher, für Tetrametaphosphat fast gleich, für Diphosphat wesentlich tiefer als die entsprechenden  $R_{ke}$ -Werte der kontinuierlichen Methode bei niedrigen Spannungen; letztere gleichen im allgemeinen denen der diskontinuierlichen Niederspannungsmethode. Bei der kontinuierlichen Methode laufen alle untersuchten Phosphate schneller als das Bezugs-Ion Bromphenolblau ( $R_{ke} > 1$ ), bei der Hochspannungsmethode wandern dagegen Tri-, Mono-, Diphosphat und besonders Grahamsches und Kurrolsches Salz zum Teil erheblich langsamer ( $R_{he} < 1$ ). Die kleinen und hochgeladenen Anionen des Trimetaphosphates laufen unter den Bedingungen der Hochspannungsmethode relativ rascher und die sperrigeren Polyphosphatketten, besonders des Grahamschen und Kurrolschen Salzes, werden relativ stärker gebremst als bei der Niederspannungsmethode.

Die Bremsung der höheren Polyphosphate in der Hochspannungselektrophorese kann auf Adsorption, aber auch auf einer Zurückhaltung durch das Maschenwerk der Cellulosefibrillen (Siebwirkung) beruhen. Beide Effekte werden sich bei der kontinuierlichen Methode auf den Ablenkungswinkel nicht auswirken, da sie sowohl den Transport durch das Flüssigkeitsmedium als auch den elektrischen Transport um den

Tabelle 1. *Relative Wanderungsgeschwindigkeiten ( $R_e$  bzw.  $R_r$ -Werte) von Phosphaten.*  $R_e$  = relative papierelektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit, (a) auf Bromphenolblau, (b) auf Trimetaphosphat bezogen.  $R_r$  und  $P_k$  = relative papierchromatographische Wanderungsgeschwindigkeit, (c) auf die Lösungsmittelfront, (d) auf das am schnellsten wandernde Phosphation, Mono- bzw. Trimetaphosphat, bezogen. Die mittleren Abweichungen vom Mittelwert des  $R_{rel}(a)$ -Wertes der kontinuierlichen Niederspannungsmethode betragen für die Ionen in untenstehender Reihenfolge (in Klammern Anzahl gemessener Werte):  $\pm 4\%$  (21 Werte),  $\pm 3\%$  (8),  $\pm 8\%$  (4),  $\pm 3\%$  (7),  $\pm 5\%$  (14),  $\pm 5\%$  (20),  $\pm 2\%$  (2), — für  $R_{rel}(a)$  der Hochspannungsmethode:  $\pm 4\%$  (10),  $\pm 4\%$  (12),  $\pm 5\%$  (6),  $\pm 9\%$  (7),  $\pm 9\%$  (7),  $\pm 9\%$  (6), —, —,  $\pm 33\%$  (4), —, —.

		Papierelektrophorese						Papierchromatographie 8a,b			
Niederspannungsmethode kontinuierlich*, pH 10; 8 Volt/cm		Hochspannungsmethode pH 10; 80 Volt/cm; Feuchtigkeitsegehalt 110%		saures Lösungsmittel I		alkalisches Lösungsmittel III					
Anion	$R_{ke}$ (a)	$R_{ke}$ (b)	Anion	$R_{he}$ (a)	$R_{he}$ (b)	Anion	$R_r$ (c)	$P_k$ (d)	Anion	$R_r$ (c)	$P_k$ (d)
Trimeta-	2,37	1,00	Trimeta-	3,45	1,00	Mono-	0,69	1,00	Trimeta-	0,53	1,00
Tetrameta-	2,04	0,86	Tetrameta-	2,08	0,60	Di-	0,44	0,64	Tetrameta-	0,40	0,75
Di-	1,93	0,82	I. ?	1,77	0,51	Tri-	0,29	0,42	Mono-	0,33	0,63
Mono-	1,87	0,79	II. ?	1,51	0,45	Trimeta-	0,20	0,29	Di-	0,24	0,45
Tri-	1,68	0,71	III. ?	1,35	0,39	Tetra-	0,17	0,25	Tri-	0,24	0,45
GRAHAM	1,47	0,62	IV. ?	1,21	0,35	Penta-	0,11	0,16	Tetra-	(0,20)	(0,38)
KURROL hochviscos	1,39	0,59	Tri-	0,5—1,5	0,1—0,4	Tetrameta-	0,08	0,12	GRAHAM	0,00	0,00
KURROL höchstviscos	1,26	0,53	Mono-	0,0—1,8	0,0—0,5	Hexa-	0,07	0,10	KURROL hochviscos	0,00	0,00
			Di-	0,18	0,07	Hepta-	0,04	0,06			
			GRAHAM	0,0—0,6	0,0—0,2	GRAHAM	0,00	0,00			
			KURROL hochviscos	0,0—0,3	0,0—0,1	KURROL hochviscos	0,00	0,00			

gleichen Anteil herabsetzen<sup>6,19</sup>. Bei der diskontinuierlichen Hochspannungselektrophorese dagegen wirken sich diese Effekte voll aus, nament-

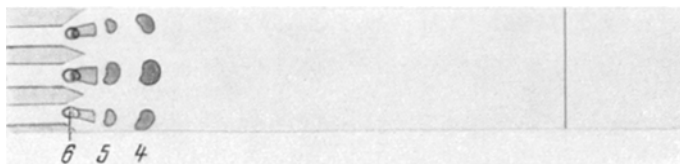


Abb. 12. Papierchromatographie 8a-b, saures Lösungsmittel

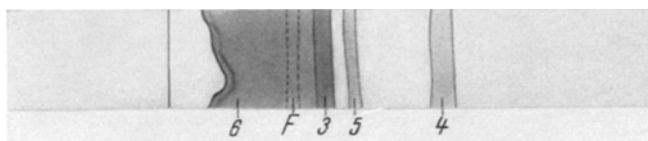


Abb. 13. Niederspannungselektrophorese<sup>16</sup>, 110 V

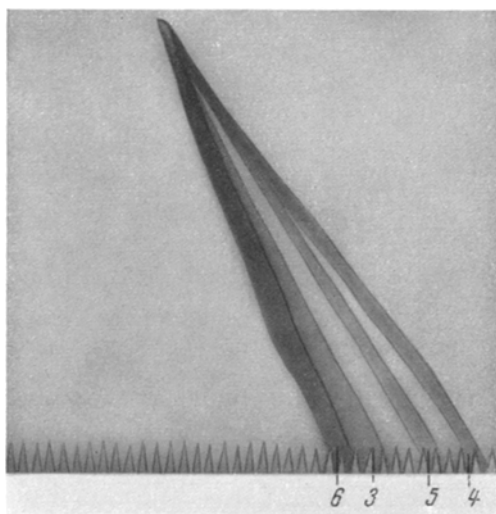


Abb. 14. Kontinuierliche Papierelektrophorese<sup>17</sup>, 300 V

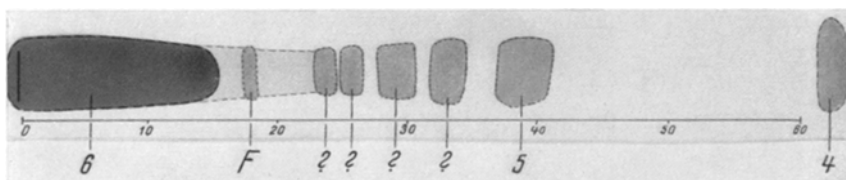


Abb. 15. Hochspannungspapierelektrophorese, 10000 V

Abb. 12—15. Auftrennung des ungereinigten Grahamschen Salzes



lich auch wegen der Verringerung der Feuchtigkeit des Streifens, durch die der zur Wanderung zur Verfügung stehende Querschnitt an freier Flüssigkeit herabgesetzt wird.

Dieses Verhalten der höhermolekularen Phosphatketten findet eine Parallele bei den hochmolekularen Proteinen<sup>7</sup>.

An Hand der Abb. 12—15 kann die Leistungsfähigkeit der verschiedenen Papierelektrophorese- und Papierchromatographiemethoden verglichen werden, Tab. 2 enthält die zugehörigen Daten. Wie hieraus ersichtlich, ist die Hochspannungspapierelektrophorese in solchen Fällen an Trennwirkung der bewährten und auch bei Vielstoffgemischen zuverlässigen Papierchromatographie stark überlegen. Zur Trennung von Mono-, Di-, Triphosphat ist die Hochspannungselektrophorese bei  $p_H$  10 allerdings wenig geeignet. Wenn Zeit vorhanden ist, wird man zweckmäßigerweise zur Kontrolle zusätzlich ein Chromatogramm anfertigen und beide Methoden nebeneinander zu Rate ziehen.

Die höhermolekulare Hauptkomponente des ungereinigten Grahamschen Salzes wird in 70 min zu einem etwa 16 cm langen kontinuierlichen Band auseinandergezogen (Abb. 15). Bei der Papierchromatographie bleibt sie als Punkt an der Auftragsstelle zurück. Es ist möglich, daß bei der Hochspannungspapierelektrophorese eine gewisse Trennung der höheren Polyphosphatketten nach kontinuierlich abnehmender Kettenlänge erfolgt. Indirekt gibt Abb. 11 einen Hinweis, in welchem die

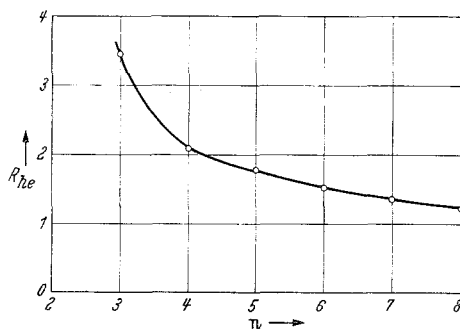


Abb. 16.  $R_{he}$ -Werte der unbekanntenen Fraktionen des ungereinigten Grahamschen Salzes. Abszisse: Kondensationsgrad der vermuteten ringförmigen Metaphosphate. Ordinate: Relative Wanderungsgeschwindigkeit  $R_{he}$ .

Tabelle 2. Daten zu den Abb. 12—15

Methode	Trennstrecke* cm	Fraktionen	Laufzeit Std	Wanderungsgeschwindigkeit cm/Std
Papierchromatographie saurer Lösungsmittel	5	4	14	0,35
alkal. Lösungsmittel	20	4	14	1,4
Papierelektrophorese eindimensional	10	3—4	3	3,3
kontinuierlich	37	4	4	9,3
Hochspannung	55	7—8	1	55

\* Entfernung: Auftragsort — schnellste Fraktion.

längeren Ketten des hochviscosen Kurrolschen Salzes ein etwas kürzeres Band als die des niedrigermolekularen Grahamschen Salzes ergeben. — Besonders interessant sind die auf Trimeta- und Tetrametaphosphat folgenden unbekanntenen Fraktionen, die gering, aber deutlich getrennt und reproduzierbar sind. Sie sind mit den übrigen 3 Methoden (Abb. 12, 13, 14) nicht gefunden worden. In ihrem Bereich liegt zwar das papierchromatographisch in geringer Menge nachgewiesene Triphosphat, vermutlich jedoch nur als Untergrundfärbung. Wahrscheinlich handelt es sich um die lange gesuchten höheren ringförmigen Metaphosphate von Penta- bis Oktametaphosphat. Herr Dr. EBEL macht uns freundlicherweise auf eine kürzlich erschienene Notiz von VAN WAZER u. KARL-KROUPA<sup>18</sup> aufmerksam, die erstmals über die Entdeckung geringer Mengen von ringförmigem Penta- und Hexa-, vielleicht auch Hepta- und Oktametaphosphat in einer größeren Einwaage hydrolysierten Grahamschen Salzes berichtet. Die von uns gefundenen, in kleinen Abständen auf Trimeta- und Tetrametaphosphat folgenden Fraktionen wären dadurch gut verständlich (Abb. 16). In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, daß 2 ähnliche unbekanntene Fraktionen, deren  $R_{he}$ -Werte etwa den beiden schnellsten unbekanntenen Fraktionen des Grahamschen Salzes, also vielleicht Penta- und Hexametaphosphatringen entsprechen, als Verunreinigung unseres Natriumtetrametaphosphates gefunden wurden (Abb. 5, S. 244). Dieses war, etwas modifiziert nach ANDRESS, GEHRING u. FISCHER<sup>1</sup> über Kupfertetrametaphosphat dargestellt worden; die in der wäßrigen Natriumsalzlösung bei  $pH$  6 mit Silbernitrat nachgewiesenen starken Verunreinigungen waren durch mehrmalige fraktionierte Fällung mit Aceton/Methanol so lange entfernt worden, bis mit Silbernitrat kaum mehr Trübung auftrat. Dieser Befund gibt möglicherweise einen Hinweis zur Darstellung der höheren ringförmigen Metaphosphate neben Tetrametaphosphat. — Die Vermutungen bedürfen weiterer präparativer Bestätigung, worüber später berichtet werden soll.

### Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird gezeigt, daß die bisher hauptsächlich in der Organischen Chemie und Biochemie verwendete Hochspannungspapier-elektrophorese auch für die Trennung *anorganischer* Ionen Bedeutung hat. Die Methode erscheint hier geeignet 1. zur schnellen Trennung anorganischer Ionen in der Betriebskontrolle, 2. zur Untersuchung instabiler Ionen mit Halbwertszeiten von  $\leq 1$  Std und 3. besonders zur Trennung höhermolekularer anorganischer Ionen, die klassischen Methoden schwer zugänglich sind und papierchromatographisch nicht mehr wandern. Im Gegensatz zur Niederspannungselektrophorese scheinen zusätzliche Trenneffekte durch stark unterschiedliche Molekülgröße möglich zu sein.

Insbesondere erlaubt die Anwendung der Hochspannungspapier-elektrophorese zum Teil neuartige Trennungen kondensierter Phosphate und Metaphosphate bei sehr kurzer Arbeitszeit, milden und relativ gut reproduzierbaren Versuchsbedingungen. Die höhermolekulare Hauptkomponente des Grahamschen Salzes wird zu einem kontinuierlichen Band auseinandergezogen. In ungereinigtem Grahamschem Salz konnten 4 bisher unbekannte, auf Trimeta- und Tetrametaphosphat folgende Fraktionen gefunden werden, die vielleicht höheren ringförmigen Metaphosphaten zugehören.

Prof. Dr. W. GRASSMANN (Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung), ferner Prof. Dr. R. KLEMENT und Dr. K. HANNIG danken wir sehr für die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit im Jahre 1955, Dr. W. DEWALD, Chemische Werke Albert, für einige Präparate und den Studierenden W. CARL, K. DORFNER und E. JÄGER, Regensburg, für sorgfältige gelegentliche Mitarbeit.

### Literatur

- <sup>1</sup> ANDRESS, K., W. GEHRING u. K. FISCHER: *Z. anorg. Chem.* **260**, 331 (1949). —  
<sup>2</sup> BAUMGARTNER, L.: Diplomarbeit München 1956 (Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung, Regensburg). Die Apparatur wurde unabhängig von <sup>20</sup>, <sup>21</sup> entwickelt. — <sup>3a</sup> CROWTHER, J.: *Analyt. Chemistry* **26**, 1383 (1954); vgl. diese *Z.* **149**, 283 (1956). — <sup>b</sup> WESTMAN, A. E. R., and J. CROWTHER: *J. Amer. ceram. Soc.* **37**, 420 (1954). — <sup>c</sup> WESTMAN, A. E. R., and A. E. SCOTT: *Nature* **168**, 740 (1951). —  
<sup>d</sup> WESTMAN, A. E. R., A. E. SCOTT and J. T. PEDLEY: *Chemistry in Canada* **4**, 189 (1952); vgl. diese *Z.* **149**, 283 (1956). — <sup>4a</sup> EBEL, J.-P.: *Bull. Soc. chim. France* **20**, 991, 998, 1089, 1096 (1953); vgl. diese *Z.* **149**, 278 (1956). — *C. R. Acad. Sci.* **234**, 621 (1952). — *Mikrochim. Acta* **1954**, 679; vgl. diese *Z.* **149**, 278 (1956). — IUPAC-Colloquium Münster 1954, Textband S. 263. — XV. Internat. Kongreß f. reine u. angew. Chem., Lissabon 1956. Referatenband S. 209. — <sup>b</sup> EBEL, J.-P., u. Y. VOLMAR: *C. R. Acad. Sci.* **233**, 415 (1951); vgl. diese *Z.* **136**, 290 (1952). — <sup>5</sup> FRANK W. H.: *Angew. Chem.* **68**, 586 (1956). — <sup>6</sup> GRASSMANN, W., u. K. HANNIG: *Hoppe Seylers Z. physiol. Chem.* **292**, 32 (1953). — <sup>7</sup> GRASSMANN, W., K. HANNIG u. L. BAUMGARTNER: unveröff. Versuche. — <sup>8a</sup> GRUNZE, H., u. E. THILO: *S.-B. dtsh. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl.* **1953**, Nr. 5, 3; vgl. diese *Z.* **149**, 281 (1956). — <sup>b</sup> THILO, E.: *Angew. Chem.* **67**, 141 (1955). — <sup>9</sup> KARL-KROUPA, E.: *Analyt. Chemistry* **28**, 1091 (1956); vgl. diese *Z.* **155**, 371 (1957). — <sup>10</sup> KÜSTER, F. W., A. THIEL u. A. FISCHBECK: *Logarithm. Rechentafeln f. Chemiker*, 67. Aufl. (1955). —  
<sup>11</sup> LOHMANN, K., u. P. LANGEN: *Biochem. Z.* **328**, 1 (1956). — <sup>12</sup> MICHL, H.: *Mh. Chem. (Wien)* **82**, 489 (1951); vgl. diese *Z.* **148**, 62 (1955/56). — <sup>13</sup> MICHL, H., H. KUHN u. H. BÜHN: *Fachl. Mitt. Österr. Tabakregie* **1956**, Heft 1, 2. —  
<sup>14</sup> SANSONI, B.: *Angew. Chem.* **65**, 423 (1953); vgl. diese *Z.* **141**, 464 (1954). —  
<sup>15</sup> SANSONI, B.: zahlreiche unveröff. Versuche seit 1952. — <sup>16</sup> SANSONI, B., u. R. KLEMENT: *Angew. Chem.* **65**, 422 (1953); vgl. diese *Z.* **141**, 463 (1954). —  
<sup>17</sup> SANSONI, B., u. R. KLEWENT: *Angew. Chem.* **66**, 598 (1954); vgl. diese *Z.* **149**, 286 (1956). — <sup>18</sup> VAN WAZER, J. R., and E. KARL-KROUPA: *J. Amer. chem. Soc.* **78**, 1772 (1956). — <sup>19</sup> WEBER, R.: *Helv. chim. Acta* **36**, 424 (1953). — <sup>20</sup> WERNER, G., u. O. WESTPHAL: *Angew. Chem.* **67**, 251 (1955); vgl. diese *Z.* **149**, 125 (1956). —  
<sup>21</sup> WIELAND, TH., u. G. PFLEIDERER: *Angew. Chem.* **67**, 257 (1955); vgl. diese *Z.* **149**, 125 (1956).

Dr. B. SANSONI, Chemisches Institut der Universität Marburg/Lahn, Bahnhofstr. 7