

# Beiträge zur Entsalzung mit Retardion 11A8

HEINZ SCHAEFER<sup>1,2</sup>

*Biologische Anstalt Helgoland, Meeresstation, Helgoland*

**ABSTRACT: Contributions to desalting with Retardion 11A8.** The isolation and determination of the soluble organic substances in sea water is very difficult because of the presence of large amounts of inorganic salts. In order to desalt the water, ion retardation with Retardion 11A8 seems to be a very efficient method. Since this procedure is at the present almost unknown, the optimal conditions of separation which have been found are described in this paper. The selectivity of the resin for different ions occurring in sea water is studied. The elution curves of a large number of organic substances (amino acids, carbohydrates, organic phosphorus compounds and organic acids) are described. Recovery of given concentrations of these substances, added to 50 ml of a salt solution similar to sea water, is 95 to 100% for most of the amino acids, carbohydrates and organic phosphorus compounds but less for other substances. Using ion retardation as a desalting means, more than 90% of the inorganic salts may be removed from the "organic fraction" by a one-step procedure. These experiments may be done on a larger scale in desalting larger volumes of sea water. Ion retardation has proved to be an excellent separation method for biochemistry and water chemistry. Work is in progress to use Retardion 11A8 as a desalting means in the isolation of organic matter from sea water.

## EINLEITUNG

Die Menge der gelösten organischen Substanzen im Meerwasser ist im Vergleich zu der Salzkonzentration so gering, daß eine starke Konzentrierung erforderlich ist, um ihre Analyse durchführen zu können. Das bedeutet, daß die Menge der anorganischen Salze auf ein Minimum reduziert werden muß, ohne daß die organischen Substanzen von der Entsalzung qualitativ und quantitativ beeinträchtigt werden. Die Entsalzung muß schonend und dennoch möglichst weitgehend durchgeführt werden können.

Von den bisher bekannten Verfahren schien mir das Ionenverzögerungsverfahren mit Retardion 11A8 am geeignetsten zu sein. Da über diese Methode bisher nur wenig bekannt ist (HATCH et al. 1957, „ION RETARDATION“ 1957, HATCH & SMITH 1961, ROLLINS et al. 1962, BIO RAD, TECHN. BULL. 1963), mußte zunächst eine Reihe von Versuchen durchgeführt werden, um die für meine Zwecke optimalen Arbeitsbedingungen zu finden und um die Grenzen der Methode kennenzulernen.

---

<sup>1</sup> Herrn Professor Dr. ADOLF BÜCKMANN zum 65. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

<sup>2</sup> Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Unterstützung der Arbeit.

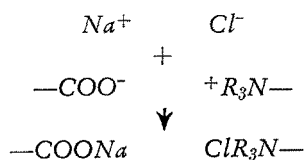
Bisher wurde über die Trennung folgender organischer Verbindungen von Salzen berichtet: Saccharose, Glycerin und Polyglyceride von NaCl (HATCH et al. 1957, HATCH & SMITH 1961), Alanin, Glutaminsäure, Gelatine und Gelatinehydrolysat von NaCl (ROLLINS et al. 1962), Enzyme von  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (HERTLEIN & KILGORE, zitiert nach BIO RAD, TECHN. BULL. 1963) und Glycin, Glutaminsäure und Arginin von HCl (BIO RAD, TECHN. BULL. 1963). Über den Grad der Entsalzung sowie über den Prozentsatz des Wiederauffindens zugesetzter organischer Verbindungen wurde jedoch nichts mitgeteilt. Die Ausbeute muß aus der Demonstration einer Kurve nicht unbedingt hervorgehen, da eine stärkere Adsorption eines Teiles der Substanzen im Bereich des Möglichen liegen kann, etwa bei noch unvollständigem Gleichgewicht der Säulen. Zum Teil sind nur kurze Hinweise über geringe Trennmöglichkeiten gegeben worden. So sollen Citrat und Acetat nicht gut von Chlorid abgetrennt werden; der Grad der Trennung wurde leider nicht bekanntgegeben (ROLLINS et al. 1962). Zudem handelte es sich bei den bisherigen Versuchen immer nur um ein Begleitsalz. Wie liegen aber die Verhältnisse bei Zusatz einer organischen Substanz zu einer größeren Menge verschiedener Salze?

Es ist daher wichtig, genaue Einzelheiten über meine Versuche mit Retardion mitzuteilen. Ich habe eine größere Zahl von organischen Verbindungen zu einer Lösung verschiedener Salze zugesetzt und dabei auf die Feststellung der quantitativen Ausbeute und der verbliebenen Salzmenge (Entsalzungsgrad) Wert gelegt. Wichtig war ferner die Untersuchung über optimale Trennbedingungen.

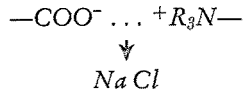
Die Versuche wurden in einem kleinen Maßstab durchgeführt. Sie lassen sich auf größere Maßstäbe übertragen, so daß auch größere Mengen salzreicher Lösungen, beispielsweise Meerwasser, mit entsprechend größeren Säulen entsalzt werden können.

#### DAS IONENVERZÖGERUNGSVERFAHREN MIT RETARDION 11A8

„Retardion 11A8“ ist die Handelsbezeichnung für ein Kunstharz der DOW Chemical Company, Midland, Mich., USA (AG 11A8 ist die weiter gereinigte Form von 11A8, hergestellt von BIO RAD Laboratories, Richmond, Cal., USA). Es handelt sich hier um den stark basischen Anionenaustauscher Dowex 2X8, in dessen Innern monomere Acrylsäureionen zu Polyacrylat-Anionen polymerisiert wurden. Es liegt also ein amphoterer Austauscher vor, der saure und basische Gruppen enthält. Diese sind aber einander derart benachbart, daß sie die gegenseitigen elektrischen Ladungen teilweise neutralisieren können. Sie vermögen daher andere Kationen und Anionen in äquivalenten Mengen zwar festzuhalten, jedoch nur so schwach, daß diese meist mit Wasser wieder ausgewaschen werden können. Dabei spielt sich, zum Beispiel bei Aufgabe einer NaCl-Lösung, folgende Reaktion ab:



Die Ionen werden also an die Ankergruppen  $-\text{COO}^-$  und  $-\text{NR}_3^+$  des Harzes gebunden. Beim Nachwaschen mit destilliertem Wasser werden sie in der Säule weiter nach unten laufen, wobei die Ankergruppen versuchen, sich wieder gegenseitig zu neutralisieren:



NaCl wird frei. Das Salz wandert, alternierend festgehalten und desorbiert, weiter durch die Säule und läuft schließlich aus. Nichtelektrolyte und organische Elektrolyte werden normalerweise nicht adsorbiert und verlassen die Säule daher vor den meisten anorganischen Elektrolyten. Diese erscheinen also mehr oder weniger verzögert im Durchlauf („Ionenverzögerung“).

Die einzelnen Ionen werden verschieden stark gebunden. Diese Selektivität von Retardion ist normalerweise dieselbe wie bei den Ionenaustauschern. Daher lassen sich auch verschiedene anorganische Ionen mit Retardion trennen (HATCH et al. 1957). Je stärker ein Ion festgehalten wird, um so größer muß aber die Wassermenge sein, um es auszuwaschen. Die Wasserstoffionen werden so stark adsorbiert, daß sie nur durch Zugabe von äquivalenten Basenmengen desorbiert werden können. Die starke Adsorption von  $\text{H}^+$  führte zur Ausarbeitung des sogenannten „Acid-Retardation“-Verfahrens (HATCH & DILLON 1963), womit Säuren von ihren Salzen getrennt werden können. Unter Umständen kann in der Säule eine Umlagerung von Salzen (Metathesis) vorkommen (HATCH et al. 1957).

Das Ionenverzögerungsverfahren ist nur in Säulen erfolgreich. Eine gute Trennung von Substanzen ist unter anderem abhängig von der Betthöhe (Höhe des Harzes in der Säule), der Durchlaufgeschwindigkeit, der Temperatur und dem Aufgabevolumen der zu trennenden Substanzen.

Wenn ein Harz erstmalig in Betrieb genommen wird oder eine Versuchsreihe mit anderen Salzen beginnt, empfiehlt es sich (HATCH et al. 1957), die Säulen zunächst mehrmals alternierend mit den in Frage kommenden Salzen und größeren Mengen an destilliertem Wasser zu behandeln, da sonst ein Teil der aufgegebenen Salzmenge in den ersten Versuchen stärker adsorbiert wird. Die Wiedergewinnung der Substanzen könnte in diesen Fällen nicht quantitativ verlaufen. Das Harz soll auf diese Weise mit einer gewissen Salzmenge beladen werden. Wenn sich der Gleichgewichtszustand eingestellt hat, kann das abzutrennende Salz quantitativ ausgewaschen werden. Das Verbleiben einer geringen Salzmenge in der Säule bedingt aber, daß die Entsalzung mit Retardion nur partiell verläuft: eine geringe Salzmenge läuft auch in der Fraktion der abgetrennten organischen Verbindungen aus. Diese kann dann, falls erforderlich, leicht mit Ionenaustauschern beseitigt werden.

## ALLGEMEINE METHODEN

Etwa 250 g Retardion 11A8, ausreichend für die Füllung mehrerer Säulen, wurde 24 Stunden lang in destilliertem Wasser unter gelegentlichem Rühren zum Quellen

gebracht. Das überstehende Wasser wurde dann dekantiert und frisches Wasser unter Rühren zugegeben. Dieser Prozeß wurde solange wiederholt, bis das Wasser frei von Verunreinigungen und feinen Partikeln war. Die Suspension wurde dann in Glasröhren gegossen, die am unteren Ende mit einer eingeschmolzenen oder mittels Polyäthylenschlauch dicht angeschlossenen Glasfilterplatte oder -tiegel der Porenweite G3 versehen waren. Diese saß fest in einem passenden Glasfiltervorstoß, der wiederum durch einen Polyäthylenschlauch ( $\varnothing$  0,5 mm) mit einem Fraktionssammler oder einem Auffanggefäß verbunden werden konnte. Die Durchflußgeschwindigkeit war durch eine Schraubklemme regulierbar.

Vor Beginn der Versuche mit der unten angegebenen Salzlösung wurde 20 ml alternierend mit je 50 ml Salzlösung und 250 ml Wasser (Salz-Wasser-Zyklus) durchgespült. Ein Kontrollversuch zeigte, daß zum Beispiel nach 7 Zyklen noch kein Gleichgewichtszustand in den Säulen vorhanden war.

Wenn durch Unachtsamkeit Luft in die Säulen drang, mußte diese durch Zurückspülen des Harzes (Wasserreservoir an Filtervorstoß anschließen!) entfernt werden. Es erwies sich als zweckmäßig, dieses Zurückspülen von Zeit zu Zeit zu wiederholen, da die Harzoberfläche leicht durch Staubpartikel oder Niederschläge verstopft werden kann. Nach dem Zurückwaschen soll man mindestens 2 Salz-Wasser-Zyklen (aber mit je 4–5 l Wasser) einschalten, um eine richtige Packung des Harzes zu erreichen.

In allen Versuchen wurde eine Salzlösung benutzt, die in ihrer ionalen Zusammensetzung ungefähr einem Meerwasser von 35 ‰ entspricht. Sie enthielt in einem Liter:

|  |  |
|--|--|
| 27,83 g NaCl                                       | 0,764 g KCl  |
| 1,565 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ | 5,671 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ |
| 6,595 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | 0,200 g $\text{NaHCO}_3$                           |
| 101,2 mg KBr                                       | 27,68 mg $\text{H}_3\text{BO}_3$                   |

Zur Aufstellung der Elutionskurven wurde der Säulenauslauf durch einen Fraktionssammler in 5 ml Fraktionen zerlegt.

Die Bestimmung der Substanzen erfolgte nach folgenden Methoden: *Chlorid*: übliche Titration nach MOHR; *Magnesium, Calcium*: übliche Titration mit AeDTE; *Natrium, Kalium*: flammenphotometrisch; *Sulfat*: nach MERCK, p. 12; *Carbonat, Bicarbonat*: nach MERCK, p. 4; *Phosphat*: nach KALLE (1934); *Aminosäuren* und verwandte Verbindungen: Ninhydrinmethode; *Kreatin*: nach TAUSSKY aus HINSBERG-LANG (1957), p. 665; *Kohlenhydrate*: Anthron- oder Nelson-Methode oder Perjodatreaktion nach SALO (1953); *Organische Phosphatverbindungen*: Anthronmethode oder Phosphatbestimmung nach Veraschen; *Brenztraubensäure*: mit Hydrazinreagens aus PAECH, p. 527; *Milchsäure*: nach BARKER & SUMMERSON aus HINSBERG-LANG (1957, p. 210); *Oxalsäure*: nach PEREIRA aus HINSBERG-LANG (1957, p. 196); *Zitronensäure*: nach SAFFRAN & DENSTEDT aus HINSBERG-LANG (1957, p. 223); *Weinsäure*: nach SALO (1953); *Gelbstoffe*: nach KALLE (1956).

## UNTERSUCHUNGEN ÜBER OPTIMALE TRENNUNGSBEDINGUNGEN

In allen Versuchen dieses Abschnittes wurden, falls nicht anders vermerkt, jeweils 1 bis 2 mg Glycin in 50 ml Salzlösung in die Retardionsäulen eingebracht und mit destilliertem Wasser nachgewaschen. Von den Ionen wurden in den meisten Fällen nur die Chloride bestimmt. Als Kriterium für die Trennleistung gilt die Lage des Schnittpunktes der Glycin- und Chlorid-Kurven beziehungsweise der Abstand der Gipfel beider Kurven. Da eine geringe Menge von Ionen aus einem vorhergehenden Versuch in den Säulen verbleibt (vgl. S. 303), verläuft die Chloridkurve im Anfang sehr schwach über der Nulllinie. Der Anstieg der Kurve zeigt dann an, daß die im neuen Versuch aufgegebene Salzlösung die Säule zu verlassen beginnt.

In den Abbildungen werden normalerweise nur die mit der jeweiligen Methode erhaltenen Meßwerte angegeben, eine Umrechnung in Äquivalente oder Mol erübrigte sich.

*Durchlaufgeschwindigkeit*

Verschiedene Durchlaufgeschwindigkeiten zwischen 40 und 100 ml/h wurden an einer kleinen Säule (2×24 cm) getestet. Ein nennenswerter Unterschied in der Trennung von Glycin und Chlorid war nicht erkennbar. Die Anwendung der Zweisäulenkombination ließ eine höhere Durchlaufgeschwindigkeit als 80 ml/h nicht zu. Aus praktischen Gründen liefen alle späteren Versuche mit 60 bis 70 ml/h.

*Zahl und Größe der Säulen*

Es wurden mehrere Säulen mit verschiedenen Durchmesser und unterschiedlicher Betthöhe von Retardion verwendet. Das Ergebnis einiger Versuche zeigt die Abbildung 1. Die Trennung ist bei der Kombination von zwei hintereinandergeschalteten, fast gleichgroßen Säulen sehr beachtlich. Sie wird zwar bei 3 Säulen noch besser, doch geschieht das auf Kosten der Durchlaufgeschwindigkeit (nur 40 ml/h). Die Kombination einer längeren (55 cm) und einer kürzeren (28 cm) Säule führte zu einer schlechteren Trennung. Ungünstig war ebenfalls eine Einzelsäule von 2×94 cm, obwohl das Volumen größer war als das der Zweisäulenkombination.

Die Trennung an zwei nicht miteinander verbundenen Säulen (54 bzw. 58 cm Betthöhe) erwies sich als unvorteilhaft. Das Eluat der ersten Säule mußte zunächst auf ein Drittel Volumen konzentriert werden, um auf die zweite Säule aufgebracht werden zu können. Das bedeutet einen zusätzlichen Arbeitsschritt. Die Zweisäulenkombination (1,7×54 und 1,5×58 cm, Gesamtvolumen von Retardion 225 ml) wurde in der Folge bei allen Versuchen über die Trennung organischer Substanzen von anorganischen Ionen angewendet.

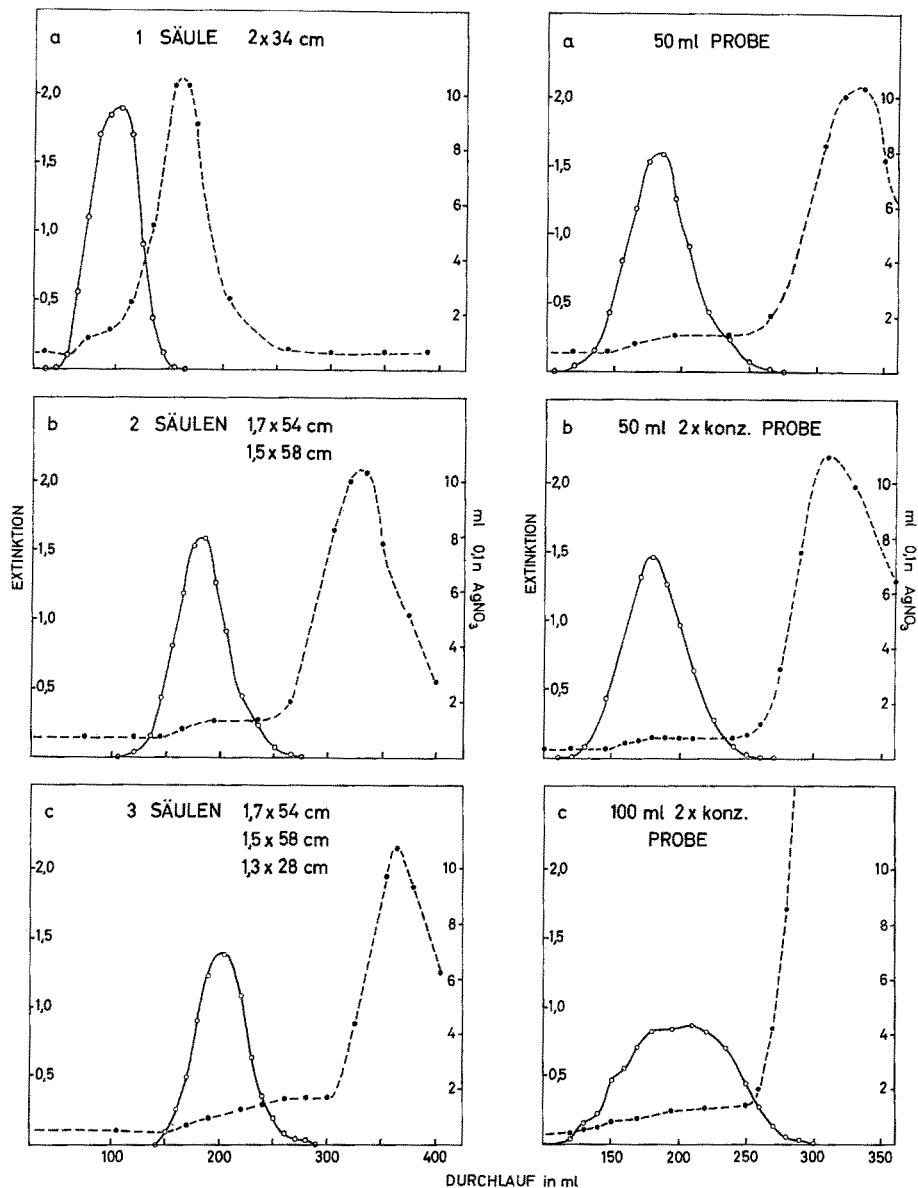


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1: Einfluß von Zahl und Größe der Säulen auf die Trennung. Vorlauf: Erste Säule 250 ml  $H_2O$ , 2 und 3 Säulen je 600 ml  $H_2O$ . Probe: je 2 mg Glycin in 50 ml Salzlösung. Durchflußgeschwindigkeit: 1 und 2 Säulen 60 ml/h, 3 Säulen 45 ml/h.  $\circ$ — $\circ$  Glycin, ..... Chlorid

Abb. 2: Einfluß des Probevolumens auf die Trennung. Vorlauf: a und b je 600 ml  $H_2O$ , c 1350 ml  $H_2O$ . Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination.  $\circ$ — $\circ$  Glycin, ..... Chlorid

*Probenvolumen und Salzkonzentration*

Auf verschiedene Säulen wurden 25 bis 150 ml Salzlösung aufgegeben. Bei Versuchen mit kleinen Säulen von  $2 \times 34$  cm Betthöhe zeigte es sich, daß die Abtrennung von Glycin bei einem Probenvolumen von 25 ml nicht viel günstiger war als bei 50 ml, dagegen wurde sie schlechter bei 80 ml. Bei der Zweisäulenkombination erwies sich eine 50-ml-Probe als sehr geeignet (Abb. 2a). Die Trennung war aber auch bei einem Probenvolumen von 100 ml Salzlösung (etwa 45 % des Harzvolumens) noch sehr gut. Sie verschlechterte sich wesentlich bei 150 ml, es traten nun starke Überschneidungen und Verbreiterungen der Kurven auf.

Recht zufriedenstellend war die Trennung bei Aufgabe von 50 ml zweifach konzentrierter Salzlösung (Abb. 2b). 100 ml zweifach (Abb. 2c) oder 50 ml vierfach konzentrierter Salzlösung führten wieder zu sehr ungünstigen Trennbedingungen, da die anorganischen Ionen verfrüht durchbrachen.

Für unsere weiteren Versuche erwies sich daher die Aufgabe von 50 bis 100 ml Salzlösung (etwa 22 bis 45 % des Bettvolumens) oder von 50 ml zweifach konzentrierter Lösung (etwa 7 % Salz) als optimal. Bei den Trennversuchen mit organischen Testsubstanzen wurden einheitlich 50 ml Salzlösung verwendet.

*Elutionsvolumen*

Zum Eluieren aufgebener Proben wird, wie oben beschrieben, bei Retardionsäulen nur destilliertes Wasser benötigt, falls es sich nicht um  $H^+$  handelt. Welches Elutionsvolumen ist erforderlich, um die Komponenten von 50 ml Salzlösung aus den Säulen zu waschen?

Zur Klärung dieser sehr wichtigen Frage wurden mehrere Versuche angestellt. Nach Aufgabe von 50 ml Salzlösung + Glycin wurden steigende Mengen destillierten Wassers (Vorlauf für den nächsten Versuch) zugesetzt und im folgenden Versuch die Menge der anorganischen Ionen bestimmt, die in der Glycinfraction verblieben waren. Untersucht wurden nur  $Cl^-$ ,  $Mg^{++}$ ,  $Ca^{++}$  und  $SO_4^{--}$ . Die Ergebnisse eines Modellversuches zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1

Der Einfluß des Elutionsvolumens auf die Entscheidung

| Vorlauf<br>in ml | In der Glycinfraction verbliebene Menge in % der aufgegebenen<br>Konzentrationen |           |           |             |
|------------------|--|-----------|-----------|-------------|
|                  | $Cl^-$   | $Mg^{++}$ | $Ca^{++}$ | $SO_4^{--}$ |
| 300              | 26,0   | 16,8      | 25,2      |             |
| 600              | 16,0   |           |           |             |
| 1550             | 8,3  | 3,7       |           |             |
| 2000             | 6,7  | 1,4       | 14,4      | 54,3        |
| 3000             | 4,8  | 1,3       | 13,7      |             |
| 3500             | 2,5  | 1,0       | 11,3      | 50,4        |
| 4000             | 1,5  | 0,6       | 7,5       | 40,9        |
| 4500             | 1,0  |           | 7,3       | 33,0        |
| 5000             | 1,0  | 0,7       | 3,7       | 26,7        |
| 6000             | 11,3   |           | 10,3      | 45,6        |

Je größer also das Elutionsvolumen ist, um so weniger anorganische Ionen werden in der organischen Fraktion des nächsten Versuches gefunden. Das gilt aber nur bis etwa 5 l Volumen bei der verwendeten Zweisäulenkombination. Zwischen 5 und 6 l steigt die Ionenmenge wieder erheblich an, der Prozeß wird wieder rückgängig gemacht.

In der Folge wurden die Säulen jeweils mit 4 bis 5 l Wasser durchgespült. In einer Reihe späterer Routineversuche ergaben sich folgende Entsalzungsgrade (Tab. 2).

Tabelle 2

Durchschnittswerte mehrerer Entsalzungsversuche. Vorlauf: durchschnittlich 4 l Wasser.  
Probe: 50 ml Salzlösung. Zweisäulenkombination

| Ion                           | Zahl der Versuche | in der Glycinfraktion gefunden in mg | Entsalzungsgrad in % |
|-------------------------------|-------------------|--------------------------------------|----------------------|
| Cl <sup>-</sup>               | 17                | 37,7                                 | 96,2                 |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> | 5                 | 49,4                                 | 63,4                 |
| Mg <sup>++</sup>              | 11                | 1,58                                 | 97,7                 |
| Ca <sup>++</sup>              | 10                | 0,66                                 | 96,8                 |

Der Entsalzungsgrad ist bei diesen Routineversuchen etwas geringer, ist aber dennoch sehr bemerkenswert.

#### *Wiederherstellung des gestörten Gleichgewichtes*

Das Gleichgewicht der Säulen kann durch übergroße Elutionsvolumina gestört werden. Doch können auch Mikroorganismen das quantitative Wiederauffinden der Testsubstanzen beeinträchtigen. Wenn Grünalgen oder Pilze in den Säulen auftraten, wurden 20 bis 200 ml n-HCl in die Säulen gegeben. Nach mehrstündigem Stehenlassen wurde mit mindestens 3 bis 4 l Wasser nachgewaschen und dann ein geringer Überschuß an n-NaOH zugesetzt, wodurch die festadsorbierten H-Ionen neutralisiert wurden. Das dabei gebildete NaCl und der Überschuß der Base können dann durch weiteren Zusatz von Wasser entfernt werden. Beim Aufgeben der Base färbt sich das Harz dunkler. Durch dieses chemische Regenerieren werden auch mögliche, an der Spitze der Säulen vorhandene Niederschläge gelöst. Nach diesem Vorgang müssen die Säulen mit mindestens 3 Salz-Wasser-Zyklen behandelt werden, um wieder in den Gleichgewichtszustand zu kommen. Das Wachstum von Grünalgen wurde in der Folge durch Umkleiden der Säulen mit schwarzem Papier hintangehalten.

Die Anwendung von 96 % Äthanol erwies sich als weniger geeignet, weil dabei Gasbläschen in der Säule auftraten, die ein Zurückwaschen und mehrmalige Salz-Wasser-Zyklen notwendig machten. Andere Mittel gegen das Aufkommen von Mikroorganismen wurden noch nicht getestet.

Wenn nach mehreren Salz-Wasser-Zyklen die Gipfel einer gut abtrennbaren Substanz und von Chlorid noch zu nahe beieinanderliegen oder wenn die Kurven anomales Verhalten zeigen, müssen die Säulen neugepackt werden. In dem herausgenomme-



nen Harz kann man dann häufig Verklumpungen feststellen, die mechanisch zu beseitigen sind. Nach der Neupackung empfiehlt es sich, die Säulen einigen Zyklen zu unterwerfen, um eine vollständige Sedimentierung zu bewirken.

### DIE TRENNUNG DER ANORGANISCHEN IONEN

Nach HATCH et al. (1957) entspricht die Selektivität von Retardion für anorganische Ionen derjenigen der entsprechenden Ionenaustauscher. Die Selektivität für die meisten der hier vorkommenden Ionen wurde von obigen Autoren bereits untersucht. Uns interessiert nur, an welcher Stelle die Ionen unserer Salzlösung die Säule verlassen.

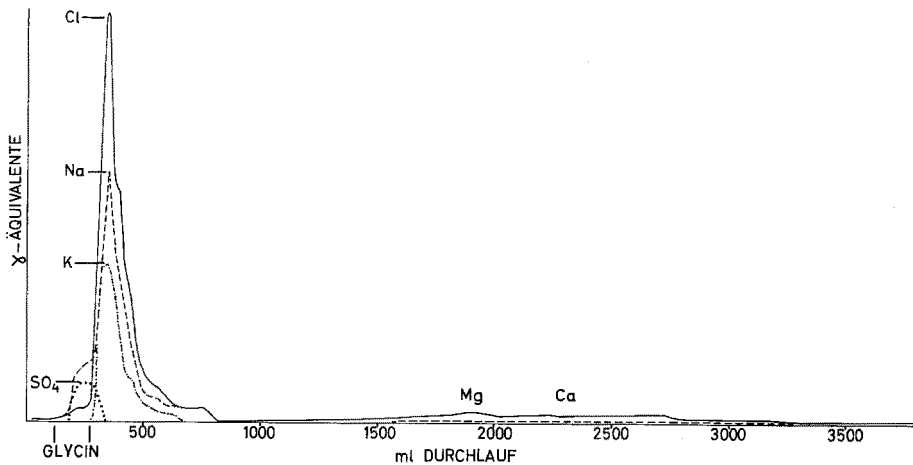


Abb. 3: Schema der Trennung von anorganischen Ionen. Die Glycinefraktion liegt zwischen 120 und 270 ml. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination

Aus orientierenden Versuchen wurde die schematische Abbildung 3 zusammengestellt. Ein großer Teil des Sulfates, vorwiegend als Kaliumsulfat erscheinend, fällt in die Glycinefraktion. Der Gipfel von  $\text{Na}^+$  folgt unmittelbar dem von  $\text{K}^+$ . Chlorid, in der Abbildung zuletzt wegen der niedrigen Konzentration nicht mehr erkennbar, setzt sich in sehr geringer Menge bis zum Ende der graphischen Darstellung fort und folgt der Kurve von  $\text{Mg}^{++}$  und  $\text{Ca}^{++}$ . Die Erdalkaliionen werden in ihrer Hauptmasse sehr deutlich von den übrigen Ionen abgetrennt, nur ein sehr geringer Teil verläuft durch die vorderen Fraktionen. Dies ist in der Abbildung nicht vermerkt, weil die Kurve von der Nulllinie kaum abweicht. Sie verlaufen in sehr langgestreckten Gipfeln, deren Maxima kaum identifizierbar sind.

$\text{NH}_4^+$  und  $\text{CO}_3^{--}$  beziehungsweise  $\text{HCO}_3^-$  erscheinen zum Teil noch in der „organischen Fraktion“ (Abb. 4). Der Gipfel der Carbonate und Bicarbonate fällt mit dem von Sulfat fast zusammen. In der „organischen Fraktion“ waren Borsäure und Bromid qualitativ nicht nachweisbar. Nach HATCH et al. (1957) erscheinen Bromsalze auch erst nach den Alkalichloriden. Strontium, das im Meerwasser in geringer Konzentration

vorkommt, war nicht in unserer Salzlösung vorhanden. Nach der Selektivitätsreihe der Ionen im Austauschverfahren dürften die  $\text{Sr}^{++}$  erst sehr spät aus den Säulen auslaufen. Die pH-Werte des Eluates folgen den Kurven der entsprechenden Ionen. Die gemessenen Maxima lagen bei pH 9 bis 10.

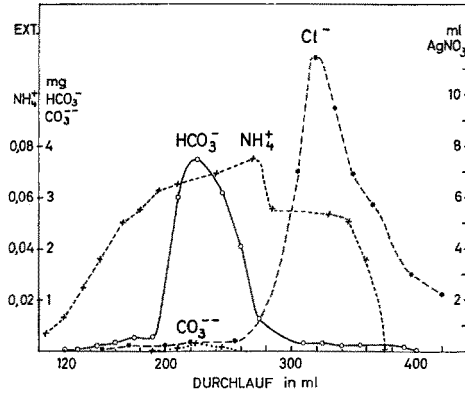


Abb. 4: Trennung von  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{--}$ ,  $\text{NH}_4^+$  und  $\text{Cl}^-$ . Zwei Versuche kombiniert. Vorlauf: 4 l  $\text{H}_2\text{O}$ . Probe: 50 ml Salzlösung + 36 mg  $\text{NaHCO}_3$  bzw. 16 mg  $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ . Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination

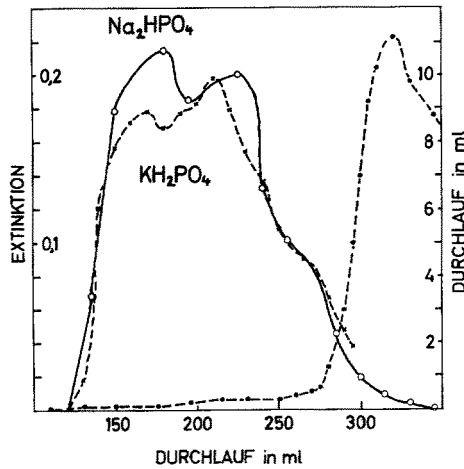


Abb. 5: Trennung von anorganischem Phosphat und Chlorid. Vorlauf: 3,6 l  $\text{H}_2\text{O}$ . Probe: 50 ml Salzlösung + 5 mg  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  bzw. 3 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination. ----- Chlorid

Die starke Verzögerung besonders der Erdalkali bedingt den großen Verbrauch an Wasser zur Elution. Es wurde daher versucht, sie in Komplexe zu überführen, um dadurch eventuell eine schnellere Elution zu erreichen. Nachdem Glycin die Säulen verlassen hatte, wurde AEDTE im Überschuß mit einem Ammoniak-Ammoniumchlorid-Puffer in die Säulen eingespült. Die Komplexbildung war aber sehr unvollständig, da in der Säule eine Auftrennung des AEDTE-Puffer-Gemisches eintrat und sich dadurch

das Gleichgewicht der Reaktion verschob. AeDTE wanderte schneller als der Puffer. Um günstige Reaktionsbedingungen für die Komplexbildung in der ganzen Säule zu schaffen, müßte mit der Zugabe des Puffers wesentlich früher begonnen werden. Der dabei entstehende Aufwand an Chemikalien und Arbeitszeit würde aber, selbst wenn die Erdalkali früher auslaufen sollten, einige wesentliche Vorteile des Ionenverzögerungsverfahrens aufheben. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung wurden folglich unterlassen.

Die Lage von anorganischen Phosphaten zeigt die Abbildung 5. Ihre Hauptmenge erscheint in der uns interessierenden „organischen Fraktion“ zwischen 120 und 270 ml Durchlauf.

### ELUTIONSKURVEN UND AUSBEUTE VON ORGANISCHEN TESTSUBSTANZEN

In diesem Abschnitt wird die Trennung einer größeren Zahl von zugesetzten organischen Verbindungen von den Salzen beschrieben und ihre Ausbeute mitgeteilt. Die Substanzen wurden in den angegebenen Mengen in 50 ml der bisher verwendeten Salzlösung gelöst.

Da Glycin von den Alkalichloriden sehr gut abtrennbar ist, und da die Chloridkurve kurz hinter dem erfolgten Auslaufen von Glycin stark ansteigt, wurde bei Ausbeuteversuchen immer der gesamte Glycin-Fraktionsbereich, also von 120 bis 270 ml Durchlauf, untersucht, zuweilen, etwa bei den Kohlenhydraten, bereits ab 80 ml. Dieser Arbeitsweise liegt die Absicht zugrunde, den Wiedergewinnungsgrad in einer für alle Testsubstanzen einheitlichen, gut fixierten Fraktion zu untersuchen, welche noch optimal entsalzt werden kann. Der Grad der Überschneidung der Kurven der Testsubstanzen und der Chloride sowie die Entfernung der Gipfel beider Kurven voneinander zeigen bereits in der graphischen Darstellung, ob eine günstige Abtrennung möglich ist. Dies wird durch die quantitativen Aussagen der Ausbeuteanalysen in exakterer Weise überprüft.

Da von Versuch zu Versuch leichte Schwankungen im Verlauf der Chloridkurve auftreten können, wurde für alle Abbildungen eine Kurve verwendet, die sich aus den Durchschnittswerten von 12 Versuchen zusammensetzt. Als Ordinate werden immer die reinen Meßwerte (Extinktionen oder Titrationswerte) ohne Umrechnung auf Molarität oder Normalität angegeben.

In einigen Fällen scheinen organische Substanzen weiter in die Chloridkurve einzudringen, obwohl die Ausbeuteanalyse eine quantitative Abtrennung ergibt. In diesen Fällen ist es möglich, daß die erscheinenden Salze einen störenden Einfluß auf die Bestimmungsmethode hatten. Der Salzfehler konnte nicht in allen Fällen bestimmt und korrigiert werden. Er wurde jedoch in jeder Ausbeuteanalyse berücksichtigt.

Der Durchlauf einer 50 ml Salzlösungsprobe ohne Zusatz von organischen Substanzen wurde auf störende Stoffe untersucht. Die  $\text{KMnO}_4$ -Reaktion war leicht positiv. Die Ninhydrinreaktion wurde nur sehr schwach beeinflußt, es trat eine Extinktionsniedrigung bis zu 0,04 Extinktionseinheiten gegenüber einer Blindprobe ohne Säulen-

material auf. Die Nelsonbestimmung der Kohlenhydrate zeigte unter denselben Bedingungen eine schwache Extinktionserhöhung bis zu 0,07 Extinktionseinheiten.

Von jeder Testsubstanz konnten nur eine oder wenige Ausbeuteanalysen gemacht werden. Diese zeigen jedenfalls an, ob die zugesetzten Substanzen quantitativ wiedergefunden werden oder nicht. Da Parallelversuche in den meisten Fällen annähernd

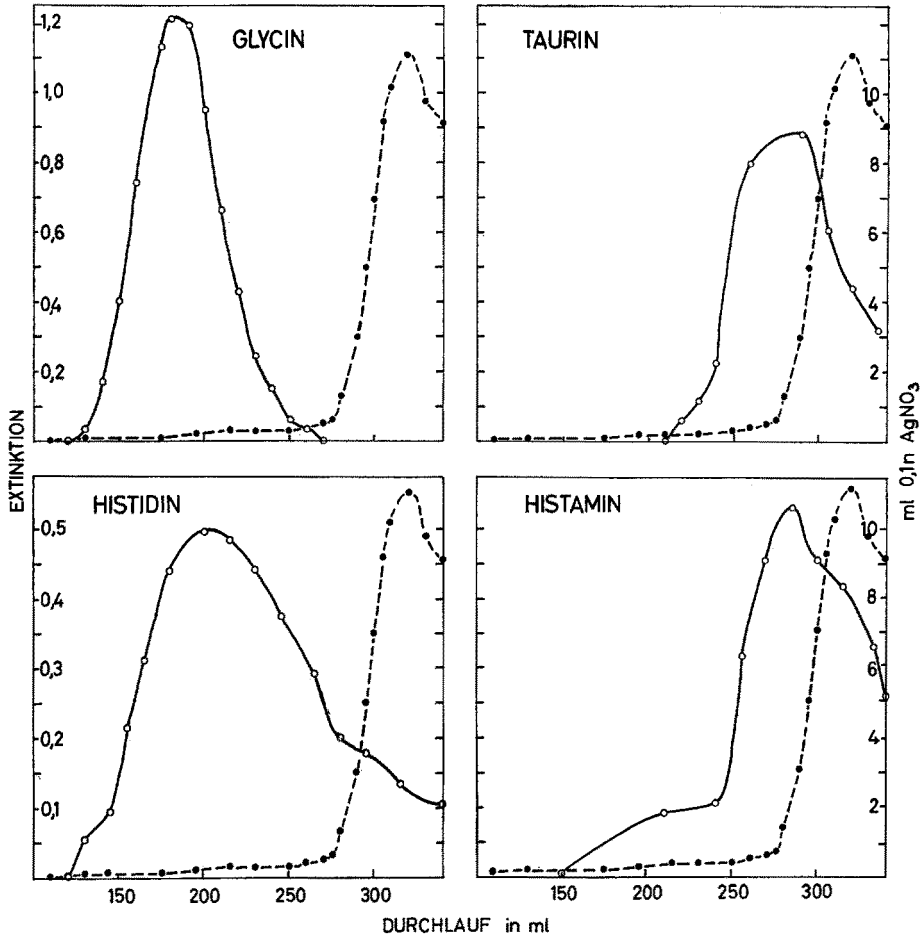


Abb. 6: Elutionskurven von Aminosäuren und verwandten Verbindungen. Vorläufe: 4 bis 5 l H<sub>2</sub>O. Proben: 50 ml Salzlösung + 2 bis 6 mg Substanz. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination. o—o Testsubstanz, ····· Chlorid

gleiche Ergebnisse brachten, könnte die Menge der Verbindungen, die nicht quantitativ in der „organischen Fraktion“ wiedergefunden wurde, mit einem Korrektionsfaktor versehen werden. Ein solcher Faktor wird gegebenenfalls in den Tabellen vorgeschlagen, er müßte aber doch noch durch eine größere Zahl von Versuchen bestätigt werden.

*Aminosäuren und verwandte Verbindungen*

Typische Elutionskurven werden in der Abbildung 6 dargestellt.

Die Elutionskurven von Cystin, Glutaminsäure, Leucin, Alanin,  $\beta$ -Alanin, Serin, Threonin,  $\alpha$ -Aminobuttersäure, Valin, Prolin, Oxyprolin, Ornithin sowie von Kreatin entsprechen der von Glycin. Die Kurven von Lysin und Arginin zeigen einen ähnlichen Verlauf wie die von Histidin, sie erstrecken sich mehr oder weniger weit in den Chloridgipfel hinein. Tabelle 3 zeigt, welcher Prozentsatz der aufgegebenen Menge der Aminosäuren in der Fraktion 120 bis 270 ml wiedergefunden wurde.

Tabelle 3

Ausbeuteanalysen von Aminosäuren und verwandten Verbindungen

| Aminosäure      | Versuche | vorgelegt<br>mg | wieder-<br>gefunden<br>mg | Ausbeute<br>% | Korrektions-<br>faktor |
|-----------------|----------|-----------------|---------------------------|---------------|------------------------|
| Glycin          | 4        | 2,0             | 1,9–1,978                 | 95,0–98,9     |                        |
| Glutaminsäure   | 1        | 2,0             | 2,0                       | 100           |                        |
| Leucin          | 1        | 2,12            | 2,08                      | 98,1          |                        |
| Alanin          | 1        | 2,0             | 1,90                      | 95,0          |                        |
| $\beta$ -Alanin | 2        | 3,0             | 3,0–3,03                  | 100–101,0     |                        |
|                 | 1        | 2,0             | 2,0                       | 100           |                        |
| Serin           | 1        | 2,0             | 1,91                      | 95,5          |                        |
| Threonin        | 1        | 2,0             | 1,986                     | 99,3          |                        |
| Valin           | 1        | 2,0             | 2,0                       | 100           |                        |
| Prolin          | 1        | 6,0             | 6,18                      | 103,0         |                        |
| Oxyprolin       | 1        | 3,0             | 2,92                      | 97,5          |                        |
| Kreatin         | 1        | 3,0             | 2,91                      | 97,0          |                        |
| Lysin           | 1        | 5,0             | 4,58                      | 91,6          | (1,092)                |
| Histidin        | 1        | 5,0             | 3,2–3,27                  | 64,0–65,5     | 1,544                  |
| Arginin         | 1        | 4,0             | 2,2                       | 55,0          |                        |
|                 | 2        | 5,0             | 2,8–2,87                  | 56,0–57,5     | 1,784                  |
| Glutamin        | 1        | 2,0             | 1,5                       | 75,0          | (1,333)                |
| Asparaginsäure  | 1        | 2,0             | 1,6                       | 80,0          |                        |
|                 | 1        | 3,0             | 2,265                     | 75,5          | (1,286)                |
| Histamin        | 2        | 6,0             | 0,6–0,654                 | 10,0–10,9     | 9,57                   |

Die meisten Aminosäuren werden zwischen 95 und 100%, also quantitativ, wiedergefunden. Die Ausbeute einiger Aminosäuren und verwandter Verbindungen ist wesentlich geringer. Dementsprechend überschneiden sich ihre Elutionskurven auch mit der Chloridkurve mehr oder weniger stark.

*Kohlenhydrate*

Zwei typische Elutionskurven sind in Abbildung 7 wiedergegeben. Die Elutionskurven von Arabinose, Xylose, Fructose, Sorbose, Mannose, Galaktose und Saccharose stimmen mit der von Glucose überein. Die Kurve von Lactose ist weiter nach vorne verlagert. Die Kurve des Trisaccharids Raffinose beginnt wie die von Lactose, endet aber wie die von Glucose. Die Elutionskurven der Zuckeralkohole Mannit und Sorbit gleichen der von Raffinose.

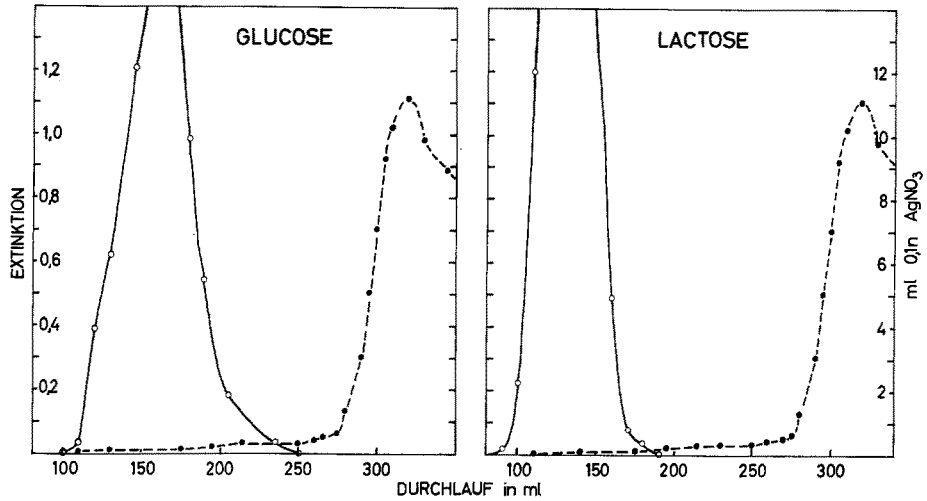


Abb. 7: Elutionskurven von Kohlenhydraten. Vorläufe: 4 bis 5 l H<sub>2</sub>O. Proben: 50 ml Salzlösung + 2 bis 5 mg Substanz. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination.  
 o—o Testsubstanz, - - - - - Chlorid

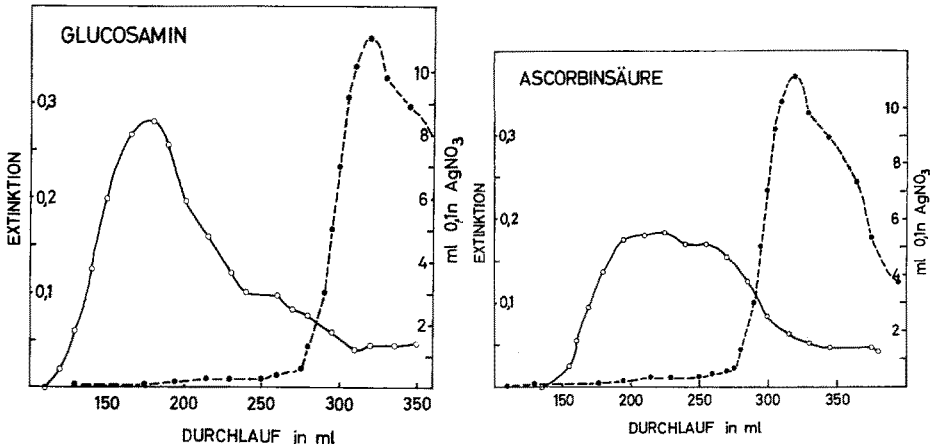


Abb. 8

Abb. 9

Abb. 8: Elutionskurve von Glucosamin. Vorlauf: 4 l H<sub>2</sub>O. Probe: 50 ml Salzlösung + 4 mg Glucosamin. Durchlaufgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination. o—o Glucosamin, - - - - - Chlorid

Abb. 9: Elutionskurve von Ascorbinsäure. Vorlauf: 3,9 l H<sub>2</sub>O. Probe: 50 ml Salzlösung + 4 mg Ascorbinsäure. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination.  
 o—o Ascorbinsäure, - - - - - Chlorid

Bemerkenswert ist, daß die Elutionskurven der Zucker gegenüber denen der Aminosäuren mehr nach links verschoben sind, die Zucker laufen also früher aus der Säule aus. Daraus ist auf eine quantitative Ausbeute zu schließen, was von den Ergebnissen der Tabelle 4 bestätigt wird. Korrekturfaktoren erübrigen sich. Die Elutions-

kurve von Glucosamin (Abb. 8) überschneidet sich sehr stark mit dem ansteigenden Chloridgebiet. Es geht aber aus der Abbildung nicht hervor, daß die Ausbeute nur so gering ist. Ähnliches gilt, wenn auch nicht in so starkem Maße, für Ascorbinsäure (Abb. 9).

Tabelle 4

Ausbeuteanalysen von Kohlenhydraten. Fraktion aufgefangen zwischen 80 bis 270 ml Durchlauf

| Kohlenhydrate | Versuche | vorgelegt<br>mg | wiedergefunden<br>mg | Ausbeute<br>% |
|---------------|----------|-----------------|----------------------|---------------|
| Glucose       | 2        | 4,0             | 3,8–3,86             | 95,0–96,5     |
|               | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Arabinose     | 1        | 5,0             | 5,025                | 100,5         |
|               | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Xylose        | 1        | 1,0             | 0,982                | 98,25         |
| Fructose      | 1        | 5,0             | 5,03                 | 100,6         |
|               | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Sorbose       | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Mannose       | 1        | 5,0             | 4,75                 | 95,0          |
|               | 1        | 4,0             | 3,82                 | 95,5          |
|               | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Galaktose     | 1        | 0,4             | 0,386                | 96,5          |
| Saccharose    | 1        | 1,0             | 0,982                | 98,25         |
| Raffinose     | 1        | 1,0             | 0,982                | 98,25         |
| Mannit        | 1        | 1,0             | 0,982                | 98,25         |
| Sorbit        | 1        | 1,0             | 0,982                | 98,25         |
| Glucosamin    | 1        | 7,0             | 1,47                 | 21,0          |
| Ascorbinsäure | 2        | 4,0             | 1,37–1,76            | 34,2–44,0     |

Die Ausbeute ist bei allen untersuchten Kohlenhydraten mit Ausnahme von Glucosamin und Ascorbinsäure quantitativ. Es ist unerheblich, ob 0,4 oder 5 mg zugesetzt worden sind.

### Organische Phosphatverbindungen

Tabelle 5

Ausbeuteanalysen von organischen Phosphatverbindungen. Fraktionen aufgefangen zwischen 80 und 270 ml

| Organ. Phosphat-<br>verbindungen      | Versuche | vorgelegt<br>mg | wiedergefunden<br>mg | Ausbeute<br>% |
|---------------------------------------|----------|-----------------|----------------------|---------------|
| Glucose-1-phosphat                    | 1        | 6,0             | 6,0                  | 100           |
| (di-Na-Salz, tetrahydrat)             | 1        | 8,0             | 7,56                 | 94,5          |
| Glucose-6-phosphat                    | 1        | 5,0             | 5,0                  | 100           |
| (di-Na-Salz)                          | 1        | 2,5             | 2,39                 | 95,5          |
| Fructose-6-phosphat                   | 1        | 6,0             | 5,88                 | 98,0          |
| (Ba-Salz)                             | 1        | 2,5             | 2,39                 | 95,5          |
| Fructose-1,6-diphosphat               | 3        | 8,0             | 6,83–7,54            | 85,4–94,2     |
| $\beta$ -Glycerophosphat<br>(Na-Salz) | 2        | 8,0             | 8,0–8,2              | 100–102,5     |

Typische Elutionskurven bringt die Abbildung 10. Die Elutionskurven von Glucose-1-phosphat und Fructose-6-phosphat sind der von Glucose-6-phosphat und damit auch der von Glucose ähnlich. Fructose-1,6-diphosphat zeigte hingegen eine lange Schwanzbildung bis in den Gipfel der Chloride hinein. Von Glycerophosphat wurde keine Elutionskurve bearbeitet. Ausbeuteanalysen sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

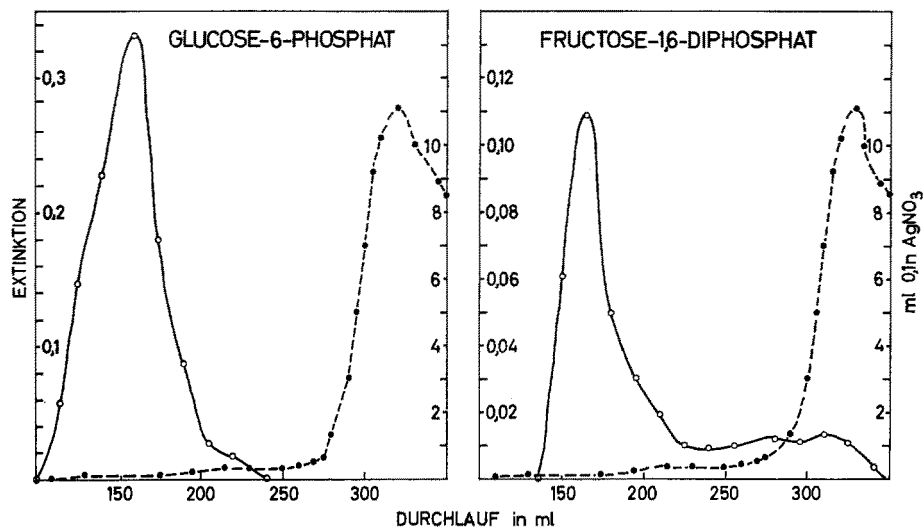


Abb. 10: Elutionskurven von organischen Phosphatverbindungen. Vorlauf: 3,9 l H<sub>2</sub>O. Proben: 50 ml Salzlösung + 3 bis 6 mg Substanz. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination. ○—○ Testsubstanz, ······ Chlorid

Die Ausbeuten sind also innerhalb einer gewissen Fehlergrenze quantitativ mit Ausnahme von Fructosediphosphat, wo die Ausbeuten stärker schwankten.

### Organische Säuren

Tabelle 6

Ausbeuteanalysen von organischen Säuren. Fraktionen aufgefangen zwischen 120 und 270 ml

| Organische Säuren    | Versuche | vorgelegt<br>mg | wiederge-<br>funden<br>mg | Ausbeute<br>% | Korrektions-<br>faktor |
|----------------------|----------|-----------------|---------------------------|---------------|------------------------|
| Brenztraubensäure    | 2        | 3,4             | 2,11–2,13                 | 62,0–62,5     | 1,606                  |
| Oxalsäure            | 1        | 2,0             | 1,0                       | 50,0          |                        |
|                      | 1        | 3,0             | 1,485                     | 49,5          | 2,010                  |
| Weinsäure            | 1        | 4,0             | 3,6                       | 90,0          | (1,067)                |
|                      | 1        | 6,0             | 5,85                      | 97,5          |                        |
| Milchsäure (Ca-Salz) | 2        | 2,125           | 1,796                     | 84,5          | (1,183)                |
| Zitronensäure        | 1        | 17,0            | 14,19                     | 83,5          | (1,197)                |



Einige Elutionskurven sind in Abbildung 11 gezeichnet. Die Kurven verlaufen sehr unterschiedlich. Sie beginnen fast alle an demselben Punkt, jedoch variiert das Überschneiden mit der Chloridkurve sehr stark. Es ist daher anzunehmen, daß ihre Ausbeute in der „organischen Fraktion“ sehr unterschiedlich ist, was auch die Tabelle 6 bestätigt.

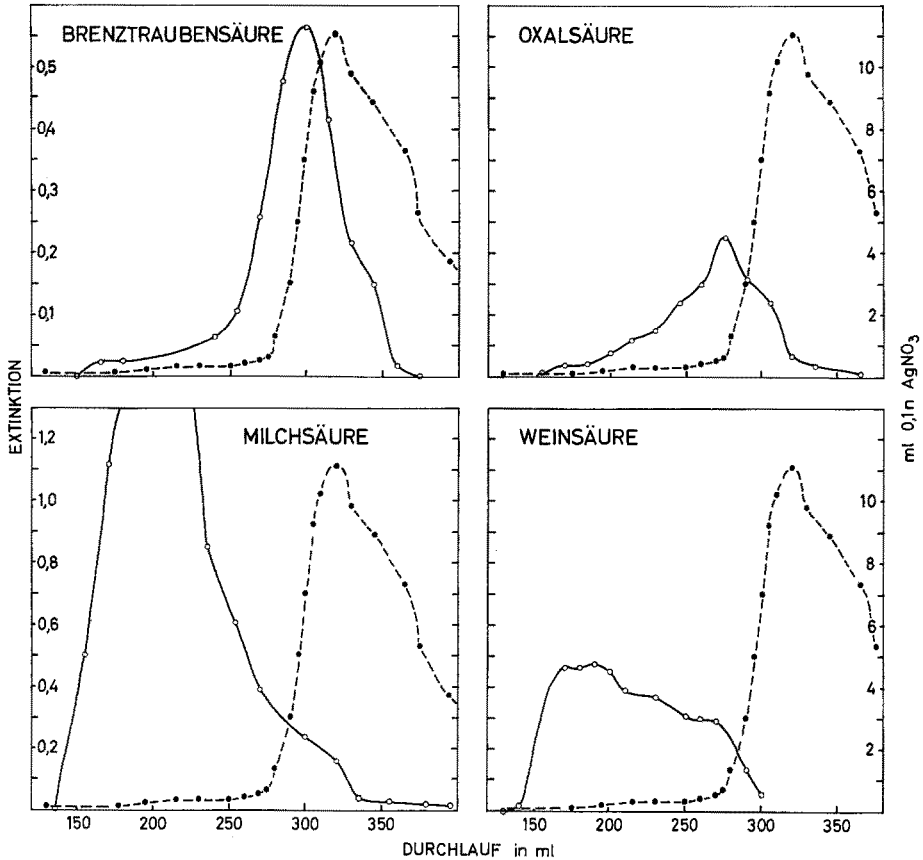


Abb. 11: Elutionskurven organischer Säuren. Vorläufe: 4,0 bis 4,3 l  $H_2O$ . Proben: 50 ml Salzlösung + 2 bis 13 mg Substanz. Durchflußgeschwindigkeit: 60 ml/h. Zweisäulenkombination. o—o Testschubstanz, ····· Chlorid

Die Elutionskurven von Milchsäure und Weinsäure zeigen deutlich, daß der größte Teil der aufgegebenen Menge in der aufgefängenen „organischen Fraktion“ vorliegt. Bei Brenztraubensäure und Oxalsäure weisen die Kurven jedoch auf eine noch geringere Ausbeute hin.

### Harnstoff

Über das Auftreten von Harnstoff im Durchlauf der Retardionsäulen wurde nur ein Testversuch mit qualitativem Nachweis mittels Urease durchgeführt. Harnstoff war

nachweisbar zwischen 170 und 290 ml mit einem Gipfel bei 215 ml. Die Hauptmenge von Harnstoff müßte also in der „organischen Fraktion“ wiederzufinden sein.

### *Gelbstoffe*

Ein von Herrn Professor KALLE (Hamburg) zur Verfügung gestelltes Gelbstoff-Konzentrat (Melanoidin) wurde mit 50 ml Salzlösung verdünnt und auf die Zweisäulenkombination gegeben. Die Gelbstoffe waren im Eluat nur schwach nachweisbar, doch war der Gipfel kurz hinter dem von Glycin erkennbar. Die Kurve lief vor dem Chloridgipfel aus. An der Spitze der ersten Säule trat eine sehr starke, dunkle Färbung auf, die mit Wasser nicht entfernt werden konnte. Offenbar wurde der Gelbstoff in zwei Komponenten zerlegt, von denen die eine stark adsorbiert wurde. Mit Retardion kann der Gelbstoff also aus einer Salzlösung entfernt werden, nur wird dabei die Hauptmenge irreversibel an das Harz adsorbiert.

### ARBEITSANLEITUNG

Für in der Säulenchromatographie Ungeübtere soll eine kurze Vorschrift für die Durchführung der Versuche mit Retardion gegeben werden.

Das Packen der Säulen wurde bereits im Abschnitt „Allgemeine Methoden“ behandelt. Zu Beginn der Versuche muß das Wasser, das eventuell in dem toten Raum unter den Säulen sowie über dem Harz der zweiten Säule steht, entfernt werden. Sonst könnte eine Verdünnung des Eluates und Verschmierung der Fraktionen eintreten. Die obere Schicht des Harzes der zweiten Säule soll nur einen Wasserfilm behalten. Zu diesem Zweck bewährt sich das Anbringen eines Ventils (Glasrohr mit Schraubklemme) in einer zweiten Bohrung des Stopfens. Damit kann der Wasserstand dann reguliert werden.

Die Säulen werden auf einen Durchlauf von 60 ml/h (bei Anwendung der Abmessungen unserer bewährten Zweisäulenkombination) eingestellt. Nachdem das überstehende Wasser in der ersten Säule in das Harz eingesickert ist, wird sofort mit großer Sorgfalt die Probe (50–100 ml) aufgebracht, ohne daß dabei die obere Harzschicht aufgewirbelt wird. Nach Eindringen der Probe wird die Säulenwand vorsichtig mit wenigen ml Wasser abgespritzt und nach Eindringen einige weitere ml Wasser zugegeben und das Wasserreservoir angeschlossen. Dabei ist wieder die Durchflußgeschwindigkeit zu prüfen. Nach 80 beziehungsweise 120 ml Durchlauf einschließlich Analysenprobe werden die Säulen entweder an einen Fraktionssammler oder an ein Auffanggefäß angeschlossen und das gewünschte Volumen zwecks weiterer Analyse aufgefangen. Danach kann die Durchflußgeschwindigkeit derart erhöht werden, daß bis zum Beginn des nächsten Versuches die erforderliche Spülmenge von 4 bis 5 l Wasser durchgelaufen ist. Das kann über Nacht geschehen. Man kann dann auch jede Säule einzeln an ein Wasserreservoir anschließen und pro Säule 2 bis 2,5 l Wasser durchfließen lassen.

Es ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Säulen niemals trockenlaufen, da sonst der zeitraubende Prozeß des Zurückwaschens mit anschließender mehrmaliger Behandlung mit Salzlösung und Wasser erfolgen muß.

Weitere Einführungen in den Gebrauch von Retardion 11A8 beziehungsweise AG 11A8 geben die Werksbroschüren der Herstellerfirmen: „ION RETARDATION“ und BIO RAD, TECHN. BULL. (siehe zitierte Literatur).

## DISKUSSION UND SCHLUSSBETRACHTUNG

Mit dem Ionenverzögerungsverfahren ist eine recht gute Abtrennung organischer Substanzen von einer größeren Menge verschiedener Salze möglich. Aus der organischen Fraktion werden insgesamt mehr als 90% der anorganischen Komponenten durch eine einmalige Säulenoperation entfernt. Das Volumen der „organischen“ Lösung ist dabei von 50 auf 190 ml (bei Einschluß der Kohlenhydrate) angestiegen. Diese Menge läßt sich mühelos durch einen Rotationsverdampfer auf ein gewünschtes Maß reduzieren. Will man die Restsalze auch noch entfernen, dann kann das Ionenaustauschverfahren zusätzlich eingesetzt werden. Dabei würde höchstens  $\frac{1}{10}$  der Menge an Austauscher benötigt, die bei der alleinigen Anwendung des Ionenaustauschverfahrens zur Entscheidung notwendig wäre. Das kombinierte Vollentscheidungsverfahren erspart viel Arbeitszeit und vor allem größere Volumina von chemischen Elutionsmitteln. Bei dem kombinierten Vollentscheidungsverfahren kann man die Kationen- und Anionenaustauschsäulen direkt an die Retardionsäulen zwischen 80 und 270 ml Auslauf (bei Verwendung der in dieser Arbeit geschilderten Säulenabmessungen) anschließen und somit die verschiedenen Substanzgruppen in einem Arbeitsgang trennen.

Eine solche Vollentscheidung, wie ja auch die partielle Salz Entfernung durch Retardion, benötigt nur sehr wenig eigentliche Arbeitszeit, da die einzelnen Schritte in wenigen Minuten durchführbar sind und ihr zeitlicher Einsatz im voraus berechnet werden kann. Eine Hilfskraft kann bei Reihenuntersuchungen bequem eine größere Anzahl von Säulenkombinationen bedienen.

Die Anwendung von Retardion zur weitgehenden Entscheidung ist im Routinebetrieb weit billiger als das Ionenaustauschverfahren, da keine Chemikalien zur Elution und zum Regenerieren notwendig sind. Überdies herrscht in den Retardionsäulen ein neutrales Milieu, so daß Veränderungen von Substanzen kaum zu befürchten sind.

Ein besonderer Vorteil ist die gute Abtrennung der Erdalkalitionen, die sich bei vielen Analysen, zum Beispiel wenn alkalisches Milieu verlangt wird, störend bemerkbar machen. Auch dadurch werden bei Verwenden von kleinen Ionenaustauschersäulen zur Restentscheidung wieder Chemikalien eingespart, da die Erdalkalitionen normalerweise sehr stark an die Kationenaustauscher gebunden werden.

Die Ausbeuteanalysen zeigen, daß nicht alle organische Verbindungen in der „organischen Fraktion“, also optimal von den Chloriden abgetrennt, wiedergefunden werden. Das bedeutet, daß es bei der Entscheidung mit Retardion nicht möglich ist, eine quantitative Gesamtbestimmung aller organischen Substanzen durchzuführen, die sich in einer gegebenen Salzlösung befinden, etwa durch die Bestimmung des Gesamtkohlenstoffs, wie sie in der Meereschemie üblich ist. Überdies ist eine geringe Abgabe von Säulenmaterial immer zu befürchten, wenn mit synthetischen Harzen gearbeitet wird.

Die Korrekturfaktoren, die für einige schlecht abtrennbare Substanzen vor-

geschlagen worden sind, dürften noch problematisch sein. Es bedarf noch einer größeren Zahl von Ausbeuteuntersuchungen, um die Streubreite der Ergebnisse exakter zu erfassen. Das war im Rahmen dieser Untersuchungen nicht möglich. Parallelversuche mit denselben Substanzen einerseits (die größeren Streuungen bei Ascorbinsäure und Fructosediphosphat können außer acht gelassen werden, da es sich um labile Verbindungen handelt) und die nahezu übereinstimmenden Ergebnisse der Ausbeute der Kohlenhydrate beziehungsweise der meisten Aminosäuren andererseits erlauben jedoch die Feststellung, daß die Streubreite sehr gering ist. Sie ist wahrscheinlich durch die Fehlergrenzen der angewandten Bestimmungsmethoden und durch unkontrollierte Einflüsse von Säulensubstanzen oder Salzen bedingt.

Ein Nachteil des Ionenverzögerungsverfahrens ist die schlechte Abtrennung der Sulfationen. Ihre restliche Entfernung gelingt aber an Anionenaustauschern. Will man bei der Restentsalzung nur die Sulfationen entfernen und stört die geringe Chloridmenge nicht, dann kann man dies auch durch Extrahieren der organischen Substanzen mit 70- bis 80%igem Äthanol erreichen, falls die organischen Substanzen darin gut löslich sind. Die Sulfate liegen in der „organischen Fraktion“ ja vorwiegend als Alkalisulfate vor, die in höherprozentigem Äthanol nahezu unlöslich sind.

Das leitet über zu einem Phänomen, welches HATCH et al. (1957) schon erwähnt haben. Diese Autoren fanden, daß bei Aufgabe einer Lösung von  $MgCl_2$  und  $NH_4Br$  eine Umwandlung der Salze (Metathesis) in  $NH_4Cl$  und  $MgBr_2$  eintrat. Eine ähnliche Metathesis konnte ich in meinen Versuchen beobachten: Magnesium läuft als Chlorid aus, und das als  $MgSO_4$  zugesetzte Sulfat wird zum Alkalisulfat.

Die Anwendung von Retardion dürfte in der Hydrobiologie von Interesse sein. Wie in einem früheren Abschnitt gezeigt wurde, erscheint ein gewisser Anteil einer zugesetzten Gelbstoffmenge in der „organischen Fraktion“. Die weitaus größte Menge aber wird im oberen Teil der Retardionsäule adsorbiert. Sie kann nicht durch Wasser ausgewaschen werden. Da die Gelbstoffe vor allem bei starker Konzentrierung des zu untersuchenden Wassers viele Analysen erheblich stören, könnte wenigstens ein großer Teil von ihnen durch Passage durch eine sehr kleine Retardionsäule von wenigen ml aus dem Wasser entfernt werden. Dem zu untersuchenden Wasser müßte dann lediglich etwas destilliertes Wasser nachgegeben werden, um andere, leicht adsorbierte organische Substanzen zu desorbieren.

Desgleichen wäre Retardion zur weitgehenden Entsalzung in der Hydrochemie geeignet, weil es die Erdalkalisalze sehr stark adsorbiert. Auf Grund der geringen Salzkonzentration könnte Süßwasser sehr stark eingengt und dann durch Retardionsäulen geschickt werden, wobei eine sehr gute Abtrennung der gelösten organischen Stoffe von den Erdalkalisalzen erfolgen würde. Versuche in dieser Richtung wurden noch nicht durchgeführt.

Mit Hilfe des geschilderten Verfahrens ist es ferner möglich, die Isolierung und Bestimmung von gelösten organischen Substanzen durchzuführen, die von marinen, in Kultur gehaltenen Organismen an das salzreiche Medium abgegeben werden. Auch in der Biochemie kann Retardion eingesetzt werden, wenn es gilt, in Spuren vorkommende Stoffe von einer salzreichen Lösung abzutrennen.

Es sind Versuche im Gange, das Ionenverzögerungsverfahren in der Analyse der gelösten organischen Substanzen im Meerwasser einzusetzen. Durch entsprechend

größere Säulen soll mit Retardion die Hauptentsalzung durchgeführt werden. Die Restentsalzung erfolgt dann entweder über die weiter oben geschilderte Zweisäulenkombination mit angeschlossenen kleinen Ionenaustauschersäulen oder allein durch entsprechend größere Ionenaustauschersäulen. Über die Ergebnisse wird in späteren Arbeiten berichtet werden.

### ZUSAMMENFASSUNG

1. Das Arbeiten mit dem Ionenverzögerungsverfahren wird eingehend beschrieben.
2. Die optimalen Bedingungen für die Trennung organischer Testsubstanzen von anorganischen Salzen bei Raumtemperatur sind: zwei hintereinandergeschaltete Säulen mit einem Gesamtvolumen von 225 ml Retardion 11A8; 50 bis 100 ml Analysenprobe einer 3,5prozentigen oder 50 ml einer 7prozentigen Salzlösung; 60 ml/h Durchflußgeschwindigkeit; 4 bis 5 l Wasser zum Eluieren und Regenerieren der Säulen.
3. Aus der organischen Fraktion werden an zugesetzten Ionen entfernt:  $\text{Cl}^-$  96,2%;  $\text{SO}_4^{--}$  63,4%;  $\text{Mg}^{++}$  97,7%;  $\text{Ca}^{++}$  96,8%.
4. Es werden Maßnahmen zur Wiederherstellung von gestörtem Gleichgewicht der Säulen beschrieben.
5. Mit Retardion 11A8 läßt sich ein Salzgemisch in seine einzelnen Komponenten zerlegen. Die Reihenfolge der untersuchten Ionen im Säuleneluat ist:  $\text{PO}_4^{---}$ ,  $\text{CO}_3^{--}$  und  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^{--}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ;  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Ca}^{++}$ . Die Abtrennung der Erdalkali ist besonders scharf.
6. Die Elutionskurven von vielen Aminosäuren und verwandten Verbindungen, Kohlenhydraten, anorganischen und organischen Phosphatverbindungen, organischen Säuren, Harnstoff und Gelbstoff werden beschrieben.
7. Der Prozentsatz des Wiederauffindens zugesetzter organischer Testsubstanzen, die von Salzen getrennt werden, beträgt 95 bis 100 für die meisten Aminosäuren, Kreatin, Zucker, Zuckeralkohole und für einige Phosphorsäureester. Die Ausbeute von Asparaginsäure und basischen Aminosäuren, Histamin, Glucosamin, Glucosediphosphat und organischen Säuren ist geringer.
8. Die Vor- und Nachteile sowie einige Möglichkeiten der Anwendung des Ionenverzögerungsverfahrens mit Retardion 11A8 in der Hydrobiologie, Biochemie und Meeresbiologie werden diskutiert.

Dem Herrn Direktor der Biologischen Anstalt Helgoland danke ich für einen Arbeitsplatz und stetes Interesse. Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. AURICH für seine Unterstützung. Herr Dr. GRUBHOFER vom SERVA-Entwicklungslabor hat mir in dankenswerter Weise den Rat zur Benutzung von Retardion 11A8 als Entsalzungsmittel gegeben. Herrn Prof. Dr. KALLE, Hamburg, bin ich für das große Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, zu Dank verpflichtet.

### ZITIERTE LITERATUR

- BIO-RAD LABS, 1963. Tech. Bull. 113.  
HATCH, M. J., DILLON, J. A. & SMITH, H. B., 1957. Preparation and use of snake-cage polyelectrolytes. *Industr. Engng Chem.* **49**, 1812–1819.

- & DILLON, J. A., 1963. Acid retardation. *Industr. Engng Chem. Process Design Dev.* **2**, 253–263.
- & SMITH, H. B., 1961. Use of snake-cage polyelectrolytes for purifying glycerine. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **38**, 470–473.
- HERTLEIN, B. C. & KILGORE, W. W., 1963. Uronic acid metabolism of *Pseudomonas syringiae*. Paper at Am. Soc. of Microbiol., Stanford, Calif. (zit. nach Bio-Rad Labs, Tech. Bull.).
- HINSBERG, K. & LANG, K., 1957. Medizinische Chemie für den klinischen und theoretischen Gebrauch. 3. Aufl. Urban & Schwarzenberg, München, 1149 pp.
- ION RETARDATION, 1957. In: Tech. Service Dev. Bull., Dow Chem. Co., Midland, Mich.
- KALLE, K., 1934. Meereskundliche chemische Untersuchungen mit Hilfe des Zeiss'schen Pulfrich-Photometers. 3. Methodische Untersuchung der Phosphorgehaltsbestimmung. *Annl. Hydrogr. Berl.* **62**, 65–74, 95–102.
- 1956. Chemisch-hydrographische Untersuchungen in der inneren Deutschen Bucht. *Dt. Hydrogr. Z.* **9**, 55–65.
- MERCK, E., AG, DARMSTADT, o. J. Die Untersuchung von Wasser. 3. Aufl.
- PAECH, K. & TRACEY, M. V. (Hrsg.), 1955. Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. Springer, Berlin, Bd 2, 626 pp.
- ROLLINS, C., JENSEN, L. & SCHWARTZ, A. N., 1962. Desalting of amino acid solutions by an ion retardation resin. *Analyt. Chem.* **34**, 711–712.
- SALO, T. P., 1953. Methods for the determination of blood sugar based on the periodate reaction. *Archs Biochem. Biophys.* **42**, 106–113.

Die Arbeit von HERTLEIN & KILGORE (1963) konnte im Original noch nicht eingesehen werden.