

Abtrennung und Bestimmung der Ionen Cu(II), Zn(II) und Mg(II) aus Lösungen von Aminosäuren am chelatbildenden Ionenaustauscher OSTSORB DTTA

A. MUCHOVÁ und Z. PIKULÍKOVÁ

*Lehrstuhl für Analytische Chemie der Pharmazeutischen Fakultät
der Comenius-Universität, CS-832 32 Bratislava*

Eingegangen am 3. März 1987

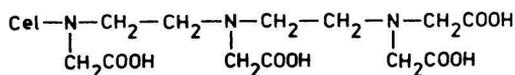
Es wurden Verwendungsmöglichkeiten des tschechoslowakischen chelatbildenden Ionenaustauschers OSTSORB DTTA (Ankergruppe Diäthylen-triamintetraessigsäure) zur Abtrennung und Bestimmung von Kationen mit unterschiedlichen komplexbildenden Eigenschaften (Cu(II), Zn(II) und Mg(II)) aus Lösungen der Aminosäuren: α -Aminoessigsäure (Gly), L-Asparaginsäure (Asp), L-Glutaminsäure (Glu), des L-Cysteinhydrochlorids (Cys · HCl) und D,L-Methionins (Met) studiert. Die Analyse von Modellgemischen mit einem unterschiedlichen Verhältnis von $n(\text{Me}) : n(\text{Säure})$ (1 : 2—1 : 2000) bestätigte, daß der pH der analysierten Lösung einen wesentlichen Einfluß auf den quantitativen Verlauf der Sorption ausübt, während kein deutlicher Einfluß von Konzentration und gegenseitigem Verhältnis der Bestandteile in Lösung festgestellt werden konnte.

The possibility of the use of Czechoslovak chelateforming ion exchanger OSTSORB DTTA (fixed functional group diethylenetriaminetetraacetic acid) has been studied for the separation and the determination of cations with different complexing properties (Cu(II), Zn(II), and Mg(II)) from the solutions of amino acids: α -aminoacetic acid (Gly), L-aspartic acid (Asp), L-glutamic acid (Glu), L-cysteine chloride (Cys · HCl), and D,L-methionine (Met). It was proved by the analysis of model mixtures with the different ratio $n(\text{Me}) : n(\text{acid})$ (1 : 2—1 : 2000) that the quantity of sorption is substantially influenced by pH of analyzed solution. On the contrary, the concentration and mutual ratio of components in solution do not influence the sorption.

Изучена возможность использования чехословацкого хелатообразующего ионообменника OSTSORB DTTA (закрепленная функциональная группа — диэтилен триамин тетрауксусная кислота) для разделения и количественного определения катионов с различными комплексообразующими свойствами (Cu(II), Zn(II) и Mg(II)) из растворов аминокислот: α -аминоуксусной кислоты (Gly), L-аспарагиновой кис-

лоты (Asp), L-глутаминовой кислоты (Glu), L-цистеинхлорида (Cys · HCl) и D,L-метионина (Met). С помощью анализа модельных смесей с разным соотношением $n(\text{Me}) : n(\text{кислота})$ (1 : 2—1 : 2000) было доказано, что на величину сорбции существенно влияет pH анализируемого раствора. В противоположность этому, концентрация и взаимное соотношение компонентов в растворе не влияют на величину сорбции.

Aufgrund koordinationsfähiger Eigenschaften der Aminosäuren ist die quantitative Abtrennung von Metallionen aus Lösungen dieser Substanzen ein immer noch schwieriges analytisches Problem. Bisher übliche Verfahren — wie Ausfällen der Metalle als Sulfide, Elektrolyse oder auch die Verwendung konventioneller Austauschere — weisen eine Reihe von Nachteilen auf, die diese Methoden wenig effektiv machen bzw. ihre Anwendung überhaupt einschränken. Gegenüber diesen Methoden besitzt die Verwendung von chelatbildenden Ionenaustauschern verschiedene Vorteile [1]. In einer früheren Arbeit [2] überzeugten wir uns von der hohen Selektivität des chelatbildenden Ionenaustauschers tschechoslowakischer Herstellung OSTSORB DTTA gegenüber einer Reihe von Schwermetall- und Erdalkalimetallionen. Nach Angaben des Herstellers [3] ist die funktionelle Gruppe dieses Ionenaustauschers (Diäthylentriamin-tetraessigsäure) in der Seitenkette der sphärischen Zellulose verankert:



Weiterhin wurde der Austauscher zur Abtrennung von Schwermetallionen aus Modellgemischen einfacher anorganischer und organischer pharmazeutischer Präparate benutzt. Die Ergebnisse dieser Arbeit führten zu dem Versuch, OSTSORB DTTA in Säulenverfahren zur Abtrennung von Metallionen aus Lösungen der biologisch wichtigen Aminosäuren α -Aminoessigsäure (Gly), L-Asparaginsäure (Asp), L-Glutaminsäure (Glu), L-Cystein HCl (Cys · HCl) und D,L-Methionin (Met) einzusetzen. Aus den Metallionen Cu(II), Zn(II) und Mg(II) und den Aminosäuren wurden Modelllösungen hergestellt, die beide Bestandteile in unterschiedlichen Stoffmengenverhältnissen enthielten ($n(\text{Me}) : n(\text{Säure}) = 1 : 2—1 : 2000$). Damit wurden Bedingungen geschaffen, die sowohl der Zerlegung gelöster Komplexe als auch der Abtrennung von Spuren der Metallionen aus Aminosäuren zwecks ihrer Bestimmung bzw. Reinigung der Säuren nahekommen.

Experimenteller Teil

Chemikalien, Lösungen und Geräte

OSTSORB DTTA — Zelluloseaustauscher mit Diäthylentriamintetraessigsäure-Ankergruppen, minimaler Gehalt an aktiven Gruppen [3] $m(\text{OSTSORB DTTA}) = 0,85 \text{ mmol/g}$ (Hersteller: Spolek pro chemickou a hutní výrobu, n. p., Ústí/Elbe).

Die Stammlösungen der Nitrate des Cu(II), Zn(II) und Mg(II), $c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$, wurden wie in [4] beschrieben hergestellt und standardisiert.

Die Stammlösungen der Aminosäuren wurden aus folgenden Chemikalien in den angegebenen Konzentrationen hergestellt:

Glycin puriss. (Fluka AG), $c = 5 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$; L-Asparaginsäure 96 % (Arzneimittelforschungsinstitut in Modra), $c = 2 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ und $c = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$; L-Glutaminsäure p. a. (Lachema, Brno), $c = 2 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$ und $c = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$; L-Cysteinhydrochlorid Monohydrat purum (Loka Feinchemie), $c = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$; D,L-Methionin (Lachema, Brno), $c = 2 \cdot 10^{-1} \text{ mol dm}^{-3}$. Alle übrigen in der Arbeit benutzten Chemikalien waren analytisch rein. Die konzentrierteren Lösungen der L-Asparagin- und L-Glutaminsäure wurden durch Auflösen der Einwaagen in Natriumhydroxidlösung ($c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$) hergestellt.

Die pH-Messungen wurden am Präzisions-pH-Meter (OP-205 Radelkis, Budapest) unter Verwendung der kombinierten Glaselektrode OP-807-1/A vorgenommen. Die quantitative Bestimmung der Metallionen in der flüssigen Phase erfolgte mittels Atom-Absorptions-Spektrophotometrie am Gerät AAS-1 (Zeiss, Jena, bzw. Perkin—Elmer) in einer Azetylen—Luft-Flamme.

Abtrennung von Cu(II), Zn(II) und Mg(II) aus Aminosäurelösungen

Aus 4 g des gewaschenen, gequollenen Austauschers (entspricht ca. 1 g des trockenen Austauschers) wurde eine Säule bereitete (Kolonne: Länge = 200 mm, Durchmesser = 7 mm).

Tabelle 1

Zusammensetzung und Volumen der auf die Ionenaustauschersäule aufgetragenen Modellösungen

$n(\text{Kation}) : n(\text{Aminosäure})$	$c(\text{Kation}) : c(\text{Aminosäure})$	$\frac{V}{\text{cm}^{-3}}$
1 : 2	$1 \cdot 10^{-3} : 2 \cdot 10^{-3}$	50
1 : 10	$1 \cdot 10^{-3} : 1 \cdot 10^{-2}$	50
1 : 100	$1 \cdot 10^{-4} : 1 \cdot 10^{-2}$	50
1 : 2000	$5 \cdot 10^{-5} : 1 \cdot 10^{-1}$	100

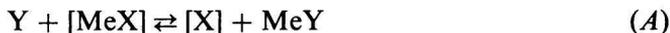
Die Modellösungen wurden durch Verdünnen der Stammlösungen hergestellt und enthielten Metallionen und Aminosäuren in Stoffmengenverhältnissen von $n(\text{Me}) : n(\text{Aminosäure}) = 1 : 2, 1 : 10, 1 : 100$ und $1 : 2000$. Die Konzentrationen beider Bestandteile und die auf die Austauschersäule aufgetragenen Volumen der Modellösungen sind in Tabelle 1 angegeben. In einigen Fällen wurde die Azidität der Modellösungen mit einer Lösung von NaOH unter potentiometrischer Kontrolle bis in den schwach alkalischen Bereich herabgesetzt (siehe Tabellen 2—4).

Chromatographische Trennung

Die Modellösungen wurden auf die Säule aufgetragen, die Durchflußgeschwindigkeit betrug $1,5 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$. Die abfließende Flüssigkeit wurde mit empfindlichen chemischen Methoden bzw. mittels AAS auf ihren Gehalt an Metallionen überprüft. Nach gründlichem Nachwaschen der Säule mit Wasser (ca. 50 cm^3) wurden die sorbierten Metallionen mit einer Lösung von HCl ($c = 1 \text{ mol dm}^{-3}$) vom Austauscher abgelöst und im Eluat ihr Gehalt mittels AAS bestimmt.

Ergebnisse

Die Sorption von Metallionen an chelatbildenden Ionenaustauschern aus Komplexbildnerlösungen wird durch Umkomplexierung bedingt, die durch folgendes Gleichgewicht beschrieben werden kann (Ladung der Ionen und pH-abhängige Zustände der Komplexbildner bleiben unberücksichtigt):



worin X = gelöster Ligand,

Y = am Austauscher verankerter Ligand.

Deshalb sind für den Sorptionsverlauf — für die nutzbare Kapazität in konkreten Experimenten — das Verhältnis der Komplexbildungstendenzen der komplexbildenden Ankergruppe und des gelösten Komplexbildners sowie der pH der Versuchslösung von großer Bedeutung.

In unserer Arbeit untersuchten wir Möglichkeiten der Abtrennung von Metallionen mit unterschiedlicher Komplexbildungstendenz — Cu(II), Zn(II) und Mg(II) von Lösungen einiger biochemisch und pharmazeutisch bedeutender Aminosäuren, die hinsichtlich ihrer komplexbildenden Eigenschaften erschwert ist. Aufgrund unserer guten Erfahrungen mit dem chelatbildenden Ionenaustauscher OSTSORB DTTA untersuchten wir seine Anwendungsmöglichkeiten bei der Lösung dieser Problematik. Um den Konzentrationseinfluß

und die Möglichkeit einer chromatographischen Trennung an der Ionenaustauschersäule bei unterschiedlichen Verhältnissen $n(\text{Me}):n(\text{Aminosäure})$ zu prüfen, führten wir die Versuche mit Lösungen in einem beiderseitigen breiten Konzentrationsbereich durch. Die konzentrierten Lösungen der L-Glutamin- und L-Asparaginsäure wurden durch Auflösen der entsprechenden Einwaagen in Lösungen von NaOH hergestellt. Deshalb waren die Modellösungen für $n(\text{Me}):n(\text{Säure}) = 1:2000$ schwach alkalisch. Die L-Cystein HCl enthaltenden Modellösungen mit Zn(II) und Mg(II) wurden ebenfalls neutralisiert, da die ursprüngliche hohe Azidität der Lösungen mit höherer Konzentration der Aminosäure die Komplexbildung dieser Kationen am Ionenaustauscher einschränkt bzw. verhindert.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen werden in den Tabellen 2—4 wiedergegeben. Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, daß Cu(II) mit Ausnahme von L-Cystein HCl von allen anderen studierten Aminosäuren sogar aus großen Ligandüberschüssen abgetrennt werden kann. Mit L-Cystein HCl fiel bei der Herstellung der Modellösungen ein unlösliches Produkt aus.

Zn(II) (Tabelle 3) wurde ebenso wie Cu(II) quantitativ aus den Lösungen der untersuchten Aminosäuren mittels OSTSORB DTTA abgetrennt. Dagegen gelang die vollständige Abtrennung von Mg(II) (Tabelle 4) aus Aminosäurelösungen bei Verhältnissen von $n(\text{Mg}):n(\text{Säure}) = 1:2$ und $1:10$ nur nach vorheriger Einstellung des pH-Wertes der Modellösung auf $\text{pH} = 9,0$. Dies läßt sich mit der geringen Koordinationsneigung des Mg(II) erklären. Bei Stoffmengenverhältnissen von $1:100$ und $1:2000$ wurde dagegen Mg(II) ohne vorherige pH-Regulierung quantitativ an der Austauschersäule gebunden. Ursache dafür könnte die Tatsache sein, daß bei den Verhältnissen $n(\text{Mg}):n(\text{Säure}) = 1:2$ und $1:10$ aufgrund der höheren Mg-Konzentrationen in den Modellösungen (Tabelle 1) ein pH-Abfall in der Austauschersäule während des Sorptionsprozesses eintritt, der bei höheren Verhältnissen ($n(\text{Me}):n(\text{Säure}) = 1:100$ und $1:2000$) hinsichtlich der geringen Mengen an Mg(II) geringfügig ist.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß die Sorption von Metallionen aus Lösungen chelatbildender Aminosäuren — wie alle komplexbildenden Gleichgewichte sehr empfindlich auf Aziditätsveränderungen reagieren kann. Deshalb ist die Wahl des optimalen pH-Wertes der analysierten Lösung ein wichtiges Kriterium für den quantitativen Verlauf der Umkomplexierung, d. h. der Sorption des Metallions am Austauscher aus der Komplexbildnerlösung.

Dagegen sagen die Ergebnisse aus, daß die Konzentration der Metallionen und Komplexbildner sowie auch deren gegenseitiges Verhältnis in Lösung einen nur untergeordneten Einfluß auf die Vollständigkeit des Sorptionsprozesses ausüben. Von der Vollständigkeit der Abtrennung der Metallionen aus der Lösung überzeugten wir uns auch durch Reinheitsteste der aus der Säule

Tabelle 2

Abtrennung von Cu(II) aus Lösungen von Aminosäuren

$n(\text{Cu}) : n(\text{Säure})$	1 : 2		1 : 10		1 : 100		1 : 2000	
Säure	$10^2 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^2 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^3 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^3 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden	
Gly	4,8	4,9	4,8	4,8	4,9	4,9	5,3	5,5
Asp	4,8	5,0	4,8	5,1	5,3	5,5	5,2	5,2*
Glu	5,2	5,1	4,8	5,1	5,3	5,6	5,2	5,2*
Cys · HCl	Bildung eines unlöslichen Komplexes							
Met	5,2	5,2	4,8	5,1	5,3	5,2	5,3	5,5

* Die aufgetragenen Lösungen wurden auf den pH \approx 9 eingestellt.

Tabelle 3

Abtrennung von Zn(II) aus Lösungen von Aminosäuren

$n(\text{Zn}) : n(\text{Säure})$	1 : 2		1 : 10		1 : 100		1 : 2000	
Säure	$10^2 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^2 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^3 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden		$10^3 n/\text{mmol}$ gegeben gefunden	
Gly	5,2	5,3	5,2	5,2	5,1	5,2	5,1	4,9
Asp	5,2	5,3	5,2	4,9	5,1	4,9	5,5	5,5*
Glu	5,2	5,3	5,2	4,9	5,1	5,0	5,5	5,6*
Cys · HCl	5,2	5,2*	5,2	5,2*	5,1	5,3*	5,1	5,4*
Met	5,3	5,3	5,2	5,1	5,1	5,3	5,3	5,5

* Die aufgetragenen Lösungen wurden auf den pH \approx 9 eingestellt.

Tabelle 4

Abtrennung von Mg(II) aus Lösungen von Aminosäuren

$n(\text{Mg}) : n(\text{Säure})$	1 : 2		1 : 10		1 : 100		1 : 2000	
Säure	10^2 n/mmol		10^2 n/mmol		10^3 n/mmol		10^3 n/mmol	
	gegeben	gefunden	gegeben	gefunden	gegeben	gefunden	gegeben	gefunden
Gly	4,5	4,2*	5,3	5,3*	4,5	4,6	4,5	4,6
Asp	5,1	5,3*	5,3	5,3*	4,5	4,6	5,3	5,5*
Glu	5,1	5,4*	5,3	5,3*	4,4	4,2	5,3	5,5*
Cys · HCl	5,5	5,4*	5,5	5,4*	5,5	5,7*	4,7	4,7*
Met	5,5	5,4*	5,2	5,2*	5,5	5,6	5,5	5,8

* Die aufgetragenen Lösungen wurden auf den pH \approx 9 eingestellt.

ablaufenden Aminosäurelösungen mittels Atom-Absorptions-Spektrophotometrie. In keinem Falle konnte in den Lösungen nach dem Ionenaustauschprozeß die Anwesenheit der Kationen nachgewiesen werden.

Die im Vergleich mit den gegebenen Mengen höheren Ergebnisse für Zn(II) und Mg(II), die in L-Cystein HCl- und D,L-Methionin-Lösungen gefunden wurden, sind wahrscheinlich auf die Verunreinigung der benutzten Substanzen der Aminosäuren durch diese Ionen zurückzuführen. Wir bestätigten diese Annahme durch einen Blindversuch. Die so gefundenen korrigierten Werte stimmten mit den gegebenen Mengen überein.

Zusammenfassend können wir aufgrund der Ergebnisse feststellen, daß die geprüfte Methode für die Abtrennung von Metallionen aus Aminosäurelösungen sehr gut geeignet ist. Sie kann für die unterschiedlichsten Problemstellungen herangezogen werden, wie Reinigung von Aminosäuren, Bestimmung von Spurenelementen in diesen Substanzen, Zerlegung von Komplexen mit nachfolgender Bestimmung des Metallions und Liganden.

Literatur

1. Hering, R., *Chelatbildende Ionenaustauscher*. Akademie-Verlag, Berlin 1967.
2. Pikulíková, Z. und Muchová, A., *Chem. Papers* 41, 69 (1987).
3. Tokar, O., *Iontovýměnné a chelatační deriváty sférické celulosy*. (Ionenaustausch- und Chelatbildner-Derivate der sphärischen Zellulose.) Prospekt der Firma Spolchemie, n.p., Abteilung IONEXY, Ústí/Elbe.
4. Muchová, A., Pikulíková, Z. und Majer, J., *Chem. Zvesti* 36, 97 (1982).

Übersetzt von A. Muchová