

bei 110 Volt Klemmenspannung 3 h laufen gelassen. Die Phosphat-Anfärbung geschah nach einer Vorschrift von B. Sansoni (s. unten). Gemessen wird der Abstand der äußeren Begrenzungslinie der gewanderten Zone von der mit einem Bleistiftstrich markierten Auftragslinie. Die hieraus berechneten Wanderungsgeschwindigkeiten v [cm/h] werden in Abhängigkeit vom p_H -Wert aufgetragen. Bild 1 zeigt eine solche Meßreihe ohne Tetra- und Tetrametaphosphat). Die Kurven sind nicht streng reproduzierbar. Infolge des elektroosmotischen und anderer Effekte^{1b, 6)} betragen die Abweichungen in vier Meßreihen bei einzelnen v -Werten bis zu 15 %. Es hat sich als zweckmäßig erwiesen, in jeder Kammer ein schnell wanderndes Phosphat als Standard mitlaufen zu lassen (z. B. Trimetaphosphat) und alle Wanderungsgeschwindigkeiten relativ zu dessen Wanderungsgeschwindigkeit anzugeben, analog den R_F -Werten der Papierchromatographie. Diese Werte sind unabhängiger von Stromschwankungen und anderen Versuchsbedingungen. Die in Bild 1 gekennzeichneten Zonen geben die p_H -Bereiche mit maximalen Kurvenabständen an.

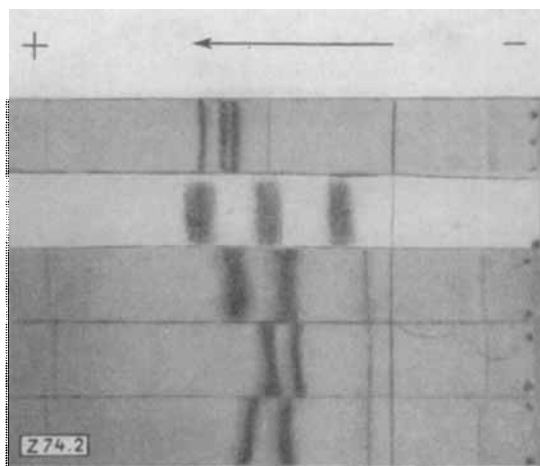


Bild 2

Beispiele für Trennungen von Phosphaten und Metaphosphaten bei $pH = 10$ in Na-Borat/NaOH-Puffer. Das Phosphatbild unter UV-Licht wurde durch Markierung mit Kohle festgehalten

1. Ortho-/Di-/Triphosphat
2. Trimeta-/Triphosphat/4
3. „Na-Triphosphat I“ techn.
Fa. Albert
4. „Na-Triphosphat II“ techn.
Fa. Albert
5. „Na-Triphosphat III“ techn.
Fa. Albert

Prof. Dr. W. Grassmann, Regensburg, danken wir für die Überlassung der Apparaturen und der Fa. Chemische Werke Albert, Wiesbaden für materielle und finanzielle Unterstützung. Zahlreiche Messungen wurden von cand. rer. nat. E. Stückl, Regensburg, ausgeführt.

Eingeg. am 19. Juni 1953 [Z 74]

Zur Anfärbung von Phosphaten und Metaphosphaten auf Filtrierpapier

Von B. SANSONI

Institut für Anorgan. und Analyt. Chemie der Phil.-Theol. Hochschule Regensburg

Phosphate und Metaphosphate auf Filtrierpapier färbt man am besten durch die Molybdänblau-Reaktion nach C. S. Hanes und F. A. Isherwood^{1, 2, 3)}. Es wird über einige Varianten berichtet, welche bei den in vorstehender Notiz beschriebenen Elektrophoreseversuchen verwendet wurden.

1.) Die Reduktion des auf dem Papier erzeugten Molybdophosphat-Niederschlags zu Phosphomolybdänblau ist unübersichtlich und liefert nur innerhalb ganz bestimmter, eng begrenzter Zusammensetzungen des Molybdat-haltigen Sprühreagenzes befriedigende Anfärbungen, u. a. in der Zusammensetzung nach¹⁾. In anderen Fällen kann die Anfärbung grüne oder graue Farbtöne

¹⁾ C. S. Hanes u. F. A. Isherwood, Nature [London] 164, 1107 [1949].

annehmen oder sich sogar umkehren, so daß Phosphat-haltige Zonen weiß bleiben und der übrige Streifen gefärbt wird. Es wurde stets ohne Zusatz von HCl gearbeitet. Von den untersuchten Kombinationen aus 0,25 bis 0,50 % wässriger $HClO_4$ und 0,06 bis 30,0 % wässriger Ammoniummolybdat-Lösung hat sich als vorteilhaft eine Mischung aus 1 Vol. wässriger 5proz. $HClO_4$ + 1 Vol. wässriger 1proz. Ammoniummolybdat-Lösung erwiesen.

2.) Es wurde gefunden, daß die Reduktion des Molybdophosphat-Komplexes auf Papier anstatt durch H_2S sauberer und eleganter in einer Photoreaktion durch Belichten mit UV-Licht^{2a)}, besser intensivem Sonnenlicht, möglich ist. Röntgenlicht ist ohne Wirkung. Einen Vergleich der Empfindlichkeiten beider Reaktionen zeigt Tabelle 1.

Fleckengröße $4 \times 0,8 = 3,2 \text{ cm}^2$ auf Filtrierpapier Whatman I	$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$		$Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$		$Na_5P_3O_{10} \cdot 6H_2O$	
	H_2S	Sonnen- bzw. UV- Licht	H_2S	Sonnen- bzw. UV- Licht	H_2S	Sonnen- bzw. UV- Licht
Empfindlichkeit in γ/cm^2	0,14	0,14	0,35	0,35	0,15	0,15

Tabelle 1

Anfärbung von Phosphaten durch Molybdat-Reagenzien nach dem Entwickeln mit H_2S sowie Sonnenlicht. Bei den angegebenen Mengen tritt noch wahrnehmbare Blaufärbung ein.

3.) Der durch das Sprühreagens nach 1.) erzeugte gelbe Molybdophosphat-Komplex zeigt unter dem UV-Licht eine deutliche Fluoreszenzstrahlung, deren Intensitätsmaximum und geometrische Begrenzung mit der Gelbfärbung im sichtbaren Licht übereinstimmt. Die anschließend durch Reduktion mit H_2S oder UV-Licht erzeugte Phosphomolybdänblau-Färbung besitzt im sichtbaren Licht häufig ein hiervon deutlich verschiedenes Intensitätsmaximum, welches bei mehreren aufeinanderfolgenden Phosphat-Zonen bei den Elektrophoreseversuchen häufig sogar genau zwischen zwei UV-Maxima lag. Das UV-Phosphat-Bild kann durch Markierung mit einem Kohlestift festgehalten werden.

Auf Grund der Beobachtungen wird folgendes Verfahren verwendet: Das Phosphat- oder Metaphosphat-haltige Filtrierpapier (Elektrophoresestreifen) wird sorgfältig unter Vermeidung jeder Tropfenbildung mit der Reagenzlösung (1 Vol. wässr. 5proz. $HClO_4$ + 1 Vol. 1proz. wässriger Ammoniummolybdat-Lösung) besprüht und über Nacht trocknen gelassen. In der Dunkelkammer wird der Streifen über einem gleich groß geschnittenen Streifen Photopapier auf einem schwach konvex gewölbten Holzbrett befestigt und kurze Zeit in 1–2 m Entfernung der aus einer Blende austretenden UV-Strahlung ausgesetzt. Das durch die Filtrierpapierschicht dringende UV-Licht wird an den Molybdat-haltigen Zonen unter Entstehung der langwelligeren Fluoreszenzstrahlung stärker absorbiert als an den nur Molybdat-haltigen Stellen. Das entwickelte Photopapier zeigt das der Betrachtung unter dem UV-Licht nach 3.) entsprechende Phosphat-Bild, während der anschließend noch länger mit UV-Strahlung belichtete Filtrierpapierstreifen das Phosphat-Bild nach der Phosphomolybdänblau-Reaktion zeigt und zur Ergänzung aufbewahrt wird. Da zur längeren Aufbewahrung ohnehin jedes Phosphomolybdänblau-Diagramm photographiert werden muß, ist die geschilderte Arbeitsweise recht einfach. Bei Anwesenheit z. B. einiger der in vorstehender Notiz genannten Puffergemische, welche ebenfalls mit Molybdat Komplexe bilden können, erfordern sämtliche genannten Anfärbverfahren einige Übung in der Unterscheidung des Grades der Blaufärbung.

4.) Gelegentlich wurden Phosphate und Metaphosphate durch Besprühen mit einer 1proz. wässrigen Silbernitrat-Lösung und anschließender Reduktion (z. B. durch Sonnenlicht) oder Entwicklung mit H_2S -Atmosphäre markiert. Die Phosphat- und Metaphosphat-haltigen Zonen werden weniger stark geschwärzt als die übrigen Stellen.

Ich danke Dr. A. Wacker, Institut für Angewandte Chemie der Universität Erlangen, für Diskussionen über papierchromatographische Methoden bestens.

Eingeg. am 19. Juni 1953 [Z 75]

²⁾ J. P. Ebel u. Y. Volmar, Compt. rend. hebdomadaire des Séances Acad. Sci. 233, 415 [1951].

³⁾ a) R. S. Bandorski u. B. Axelrod, J. biol. Chemistry 193, 405 [1951]; b) W. E. Trevelyan, D. P. Procter u. J. S. Harrison, Nature [London] 166, 444 [1950]; c) S. Burrows, F. S. M. Grylls u. J. S. Harrison, ebenda 170, 800 [1952]; d) R. Markham u. J. D. Smith, Biochem. J. 45, 294 [1949].