

bei 110 Volt Klemmspannung 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 pH-Wert aufgetragen. Bild 1 zeigt eine solche Meßreihe ohne Tetra- und Tetrametaphosphat. Die Kurven sind nicht streng reproduzierbar. Infolge des elektroosmotischen und anderer Effekte<sup>b, c)</sup> 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 pH-Bereiche mit maximalen Kurvenabständen an.

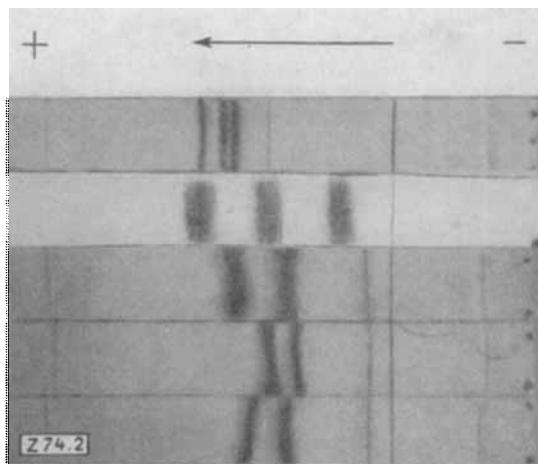


Bild 2

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/<sup>a</sup>  
Grahamsches Salz
3. „Na-Tripolyphosphat I“ techn.  
Fa. Albert
4. „Na-Tripolyphosphat II“ techn.  
Fa. Albert
5. „Na-Tripolyphosphat 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 Filtrerpapier

Von B. SANSONI

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

Phosphate und Metaphosphate auf Filtrerpapier färbt man am besten durch die Molybdänblau-Reaktion nach C. S. Hanes und F. A. Isherwood<sup>1, 2, 3)</sup>. Es wird über einige Varianten berichtet, welche bei den in vorstehender Notiz beschriebenen Elektrophoresever suchen 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 Sprühreagenses befriedigende Anfärbungen, u. a. in der Zusammensetzung nach<sup>1)</sup>. In anderen Fällen kann die Anfärbung grüne oder graue Farbtöne

<sup>1)</sup> 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  $\text{HClO}_4$  und 0,06 bis 30,0 % wässriger Ammoniummolybdat-Lösung hat sich als vorteilhaft eine Mischung aus 1 Vol. wässriger 5 proz.  $\text{HClO}_4$  + 1 Vol. wässriger 1 proz. Ammoniummolybdat-Lösung erwiesen.

2.) Es wurde gefunden, daß die Reduktion des Molybdochosphat-Komplexes auf Papier anstatt durch  $\text{H}_2\text{S}$  sauberer und eleganter in einer Photoreaktion durch Belichten mit UV-Licht<sup>3a)</sup>, besser intensivem Sonnenlicht, möglich ist. Röntgenlicht ist ohne Wirkung. Einen Vergleich der Empfindlichkeiten beider Reaktionen zeigt Tabelle 1.

		$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	
Fleckengröße $4 \times 0,8 = 3,2 \text{ cm}^2$ auf Filtrerpapier Whatman I	$\text{H}_2\text{S}$	Sonnen- bzw. UV- Licht	$\text{H}_2\text{S}$	Sonnen- bzw. UV- Licht	$\text{H}_2\text{S}$
Empfindlichkeit in $\gamma/\text{cm}^2$ .....	0,14	0,14	0,35	0,35	0,15

Tabelle 1

Anfärbung von Phosphaten durch Molybdat-Reagens nach dem Entwickeln mit  $\text{H}_2\text{S}$  sowie Sonnenlicht. Bei den angegebenen Mengen tritt noch wahrnehmbare Blaufärbung ein.

1

2

3

4

5

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  $\text{H}_2\text{S}$  oder UV-Licht erzeugte Phosphomolybdänblau-Färbung besitzt im sichtbaren Licht häufig ein hiervom deutlich verschiedenes Intensitätsmaximum, welches bei mehreren aufeinanderfolgenden Phosphat-Zonen bei den Elektrophoresever suchen 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 Filtrerpapier (Elektrophoresestreifen) wird sorgfältig unter Vermeidung jeder Tropfenbildung mit der Reagenslösung (1 Vol. wässr. 5 proz.  $\text{HClO}_4$  + 1 Vol. 1 proz. 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 Filtrerpapierschicht 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 Filtrerpapiertreifen 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 Anfärbeverfahren einige Übung in der Unterscheidung des Grades der Blaufärbung.

4.) Gelegentlich wurden Phosphate und Metaphosphate durch Besprühen mit einer 1 proz. wässrigen Silbernitrat-Lösung und anschließender Reduktion (z. B. durch Sonnenlicht) oder Entwicklung mit  $\text{H}_2\text{S}$ -Atmosphäre markiert. Die Phosphat- und Metaphosphat-haltigen Zonen werden weniger stark geschwäzt 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]

<sup>2)</sup> J. P. Ebel u. Y. Volmar, Compt. rend. hebd. Séances Acad. Sci. 233, 415 [1951].

<sup>3)</sup> 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, Biochemic. J. 45, 294 [1949].