

Beiträge zur Kenntnis der Papierelektrophorese in feuchter Kammer II. Elektrische Messungen.*

Zvonimir Pučar

Zentrales Medizinisch-Chemisches Laboratorium, Zagreb, Kroatien, Jugoslawien

Eingegangen am 15. Januar 1954.

Im Folgenden wird eine Experimentalapparatur beschrieben, die es ermöglicht, einige wichtige physikalische Vorgänge, an denen sich die Puffer — bzw. Elektrolytlösung beteiligt, während der Elektrophorese in feuchter Kammer messend zu verfolgen. Ausser der Stromstärke wurde auch das Spannungsgefälle in den einzelnen charakteristischen Teilen der Apparatur nach der Kompensationsmethode gemessen. Mittels der Kompensationsmethode wurden auch die Veränderungen der mittleren apparenten Feldstärke längs des Filterpapierstreifens zeitlich verfolgt. Diese Messungen geben ein quantitatives Bild der Zustandsänderungen, die in Mitteilung I. dieser Aufsatzreihe nur qualitativ durch das Studium der apparenten Bewegungsform der Kolloidteilchen erfasst wurden.

EINLEITUNG

Nachdem wir in der ersten Mitteilung¹ durch theoretische Überlegungen und durch die auf experimentellem Wege erhaltenen Diagramme der elektrophoretischen Trennung zu einer schematischen Vorstellung des Konzentrations-, Leitfähigkeits- und Feldstärkeverlaufs längs des Filterpapierstreifens in Abhängigkeit von der Zeit und vom Arbeitsregime gelangten, versuchen wir jetzt diese Veränderungen während des Stromdurchganges durch elektrische Messungen quantitativ zu verfolgen.

Diese Messungen sollen uns die Veränderungen der Feldstärkengradienten in Abhängigkeit von der Elektrolyt- bzw. Pufferleitfähigkeit und der verwendeten Stromspannung bei einer bestimmten Filterpapierstreifenlänge veranschaulichen. Gleichzeitig soll gezeigt werden, dass die für die Verwertung der Feldstärkekurven vorausgesetzten Bedingungen, d. i. die Vermeidung der Veränderungen des Elektrolyts an den Enden des Filterpapierstreifens und die Konstanz der Filterpapierfeuchtigkeit verhältnismässig einfach realisierbar sind.

DIE EXPERIMENTALAPPARATUR

Die Messungen wurden auf einer von uns zu diesem Zweck entwickelten und erbauten Apparatur vorgenommen (Abb. 1.).

In einem Glaskasten (α) befinden sich, streng vom Kasten durch Transformatoröl isoliert, vier Paare von Elektrodengefässen (Jug. Pat. Nr. 17805 p293/1952)^{2, 3}. Der Inhalt der Elektrodengefässe ist 250 ccm. Die kathodischen und die anodischen

* Vorgetragen auf der Zusammenkunft der jugoslawischen Chemiker und dem I. Kroatischen Kongress für reine und angewandte Chemie in Zagreb am 16. Oktober 1952.

Elektrodengefäße sind mit stromtragenden Platinelektroden versehen, und ausserdem wurden in jedes Elektrodengefäß noch Platinmesselektroden montiert, und zwar am Ausgang des Syphonsystems so wie an der Stelle, wo die Filterpapierstreifen mit der Elektrolytlösung in Kontakt stehen. Im Folgenden soll ein kathodisches und das zugehörige anodische Elektrodengefäß mit dem dazwischen aufgespannten

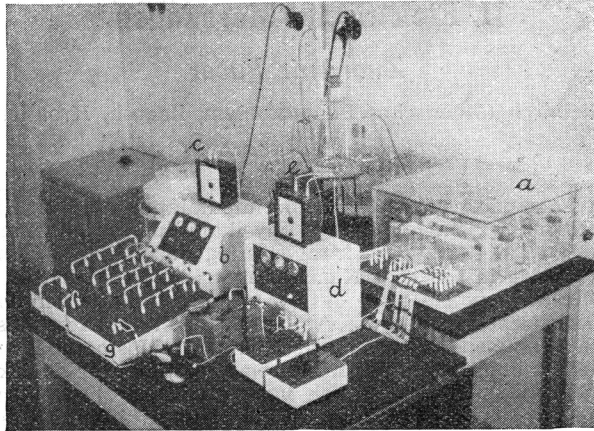


Abb. 1.: Die Experimentalapparatur bestehend aus der feuchten Kammer (a), den Röhrengleichrichter (b), Milliampmeter (c), Kompensator (d), Voltmeter (e), Nullinstrument-Galvanometer (f), und der Schalttafel (g).

Slika 1.: Eksperimentalna aparatura, koja se sastoji od vlažne komore (a), cijevnog ispravljača (b), miliampermetra (c), kompenzatora (d), voltmetra (e), nulinstrument-galvanometra (f), i rasklopne ploče (g).

feuchten Filterpapierstreifen als eine Einheit, bzw. ein Elektrophoresesystem, angesehen werden. Durch die erwähnten Elektroden und Messelektroden wird daher jedes Elektrophoresesystem in fünf charakteristische Räume aufgeteilt. In Abb. 2. ist diese Aufteilung schematisch wiedergegeben.

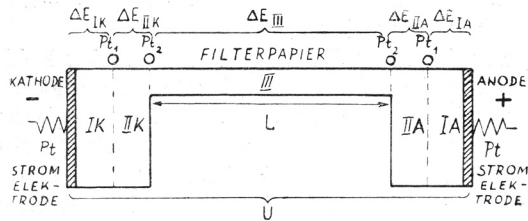


Abb. 2.: Schematische Wiedergabe der Aufteilung des Elektrophoresesystems durch die Platinmeselektroden Pt_1 und Pt_2 in fünf charakteristische Räume.

Slika 2.: Sematski prikaz glavnog dijela aparature, koji je pomoću mjernih platinskih elektroda Pt_1 i Pt_2 podijeljen na pet karakteristična prostora.

Im kathodischen (I_K) und anodischen (I_A) Syphonsystem wird es während des Stromdurchgangs zu starken Veränderungen des Elektrolyts kommen. Die Polarisation ist stark, obwohl jede der Stromtransportelektroden eine Oberfläche von ca. $2,2 \text{ cm}^2$ besitzt und daher bei den höchsten in Betracht kommenden Stromstärken die Stromdichte von 2 mA/cm^2 nicht überschritten wird. In den Räumen II_K und II_A , mit denen sich der Filterpapierstreifen in Kontakt befindet, dürften sich keine Veränderungen des Elektrolyts infolge von Stromtransport bemerkbar machen. Durch Raum III ist der feuchte zwischen den beiden Elektrodengefäßen aufgespannte Filterpapierstreifen dargestellt, auf dem wegen Stromdurchgang bzw. Erwärmung

und darauffolgender Verdunstung die Bildung der Konzentrationsgradienten stattfindet. Der Spannungsabfall an einzelnen Elektroden wird durch die Poggendorfsche Kompensationsmethode oder durch einen Röhrenvoltmeter gemessen, und bei gleichzeitiger Kenntnis der Stromstärke wird nach dem Ohmschen Gesetz auf die Grösse der Gasamtwiderstände, bzw. Leitfähigkeiten der einzelnen Räume geschlossen.

Um auch die Messung der mittleren apparenten Feldstärke in jedem Zeitpunkt und an jedem Ort am Filterpapier der Länge nach zu ermöglichen, wurde in der feuchten Kammer, d. h. im Glaskasten, an einem geeigneten Gestell, das sich von aussen durch einen Handgriff betätigen lässt, zwei weitere Elektroden angebracht in Form von zwei in einer Entfernung von genau 1 Zentimeter an einem Isolationsmaterial fixierten Platindrähten (Abb. 3.).

Durch Impregnierung des Isolators mit Siliconfett wurde die äusserst unerwünschte Oberflächenleitfähigkeit in der herrschenden feuchten Atmosphäre vermieden. Diese Elektrodengabel kann, ohne Unterbrechung des Experiments, von aussen her entlang des Filterpapiers geschoben werden. Alle elektrischen Leitungen die sich in der feuchten Kammer befinden sind durch Polyvinyl isoliert.

Der Gleichstrom wird einem speziell gebauten Röhrengleichrichter (b) mit stabilisierten Spannungen von 140, 280 oder 420 Volt entnommen (Abb. 1.). Ein Milliampmeter (c) dient zur Messung der Stromstärke in jedem einzelnen Elektrophoresesystem. Das Instrument gestattet je nach dem in Frage kommenden Messgebiet eine Ablesungsgenauigkeit auf 0,002 bzw. 0,02 mA. Für sämtliche Spannungsmessungen nach der Kompensationsmethode wurde ein Kompensator mit eingebauter stabilisierter Stromquelle gebaut (d). Der Kompensator gestattet Spannungsmessungen von 0,1 bis 420 Volt. Der dazugehörige Voltmeter (e), und das zugehörige Nullinstrument-Galvanometer (f), Empfindlichkeit 5×10^{-8} A, sind aus Abb. 1. ersichtlich. Durch die Schalttafel (g) kann das Milliampmeter ohne Unterbrechung des Stromes in jeden Stromkreis eingeschaltet werden, und ausserdem kann jede der Platinelektroden zwecks Messung der Stromspannungen automatisch in richtiger Weise mit dem Kompensator verbunden werden. Ein kleines Voltmetr kontrolliert die Klemmspannung, und ein zusätzliches Milliampmeter kontrolliert die gesamte Stromstärke durch die Apparatur.

Durch die beschriebene Anordnung können die Veränderungen des Elektrolyts in den einzelnen Teilen der Elektrodengefässe, und auch auf jedem beliebigen Punkt des Filterpapierstreifens schnell und genau, ohne Unterbrechung des Verlaufs des Experiments, durch elektrische Messung verfolgt werden. Auf diese Weise kann die Messung der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier auf $\pm 0,05$ Volt genau ausgeführt werden.

EXPERIMENTELLES

Für die Experimente wurde das Filterpapier Munktell No. 20/150 verwendet. Die Dimensionen der Streifen waren 2×33 cm. Da in jedes der Elektrodengefässe die Streifen 3 cm tief eingetaucht wurden, war die freie Länge der Streifen, bzw. der Abstand der Elektrodengefässe, immer 27 cm. Als die Elektrodengefässe vollkommen mit Pufferlösung, bzw. Elektrolytlösung, gefüllt waren, wurden die Filterpapierstreifen schnell durch die Pufferlösung, bzw. Elektrolytlösung, gezogen, durch leichtes Abtupfen mit trockenem Filterpapier von überschüssiger Lösung befreit, und zwischen den Elektrodengefässen mittels Glasgewichte aufgespannt. Nach der Schliessung der feuchten Kammer wurde zwecks vollkommenen örtlichen Ausgleichs der Feuchtigkeit am Filterpapier 30 Minuten abgewartet. Wenn Messungen der apparenten Feldstärke am Filterpapier vorgenommen waren, wurde das Filterpapier auf eine dünne Glasplatte der Dimension 27×3 cm gelegt. Damit wurde das Anlegen der Elektrodengabel zwecks Messung der Feldstärke ermöglicht, und das Festliegen des Filterpapiers in einer Ebene gewährleistet.

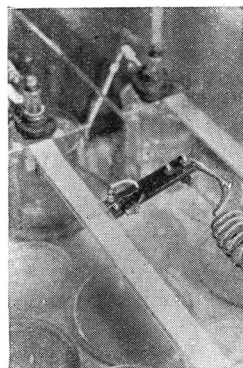


Abb. 3.: Anordnung zur Messung der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapierstreifen.

Slika 3.: Uredaj koji omogućuje mjerenje srednje apparentne jakosti električnog polja na filtarskom papiru.

Wir bezeichnen als mittlere apparente Feldstärke das Spannungsgefälle, das zwischen zwei voneinander in der Stromrichtung 1 cm entfernten Punkten am Filterpapier herrscht. Deswegen haben die Platindrähte unserer Elektrodengabel einen Abstand von 1 cm. Der Ort der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier ist durch den Mittelwert der Entfernung der beiden Platindrähte der Elektrodengabel von dem freien kathodischen Ende des Filterpapiers gegeben. Da wir die mittlere apparente Feldstärke in Intervallen von 1 cm zu 1 cm nach der Zeit messend verfolgen wollten, wurden die zu messenden Stellen am Filterpapier durch Bleistift leicht markiert.

Wie schon in der ersten Mitteilung beschrieben wurde, wurde auch jetzt das Na-Veronal Na-Acetat HCl Puffer, $p_H = 8,60$, als Elektrolytlösung verwendet. B ist wieder die Konzentration des dissoziierten Anteiles der Diethylbarbitursäure in Mol/Lit. Die Konzentration des zugefügten Na-Acetats war immer $c = B \times 1,415$.

Beispiel: Die Herstellung des Puffers $B = 0,0208$ Mol/Lit, $p_H = 8,60$, der sich übrigens bei uns für die Elektrophorese von Serum-eiweißkörpern sehr gut bewährt hat (Papierstreifenlänge $L = 27$ cm, Klemmspannung $U = 140$ Volt), erfolgt folgendermaßen:

Na-Veronal	5,0000 g
Na-Acetat $\cdot 3 H_2O$	4,0000 g
n/10 HCl	34,0 ccm
Destilliertes Wasser ad 1000 ccm	

Alle übrigen Pufferlösungen erhält man offensichtlich nur durch Änderung des Auffüllvolumens. Alle Angaben der spezifischen Leitfähigkeiten beziehen sich auf die Temperatur von 25°C.

RESULTATE

A) Die Konstanz der Filterpapierfeuchtigkeit.

Bevor wir zu den eigentlichen elektrischen Messungen übergehen, soll noch kurz eine wichtige Eigenschaft des verwendeten Filterpapiers geschildert werden. Es soll die in Mitteilung I. von uns bereits behauptete Konstanz der Filterpapierfeuchtigkeit experimentell bewiesen werden.

Das Filterpapier trocknet durch die Verdunstung nicht, weil es gleichzeitig frische Elektrolytlösung von den beiden Enden her kapillarisch aus den Elektrodentröfen ansaugt. Es kann experimentell gezeigt werden, dass die Schichtdicke des Elektrolyts am Filterpapier $p = q/l$ sogar praktisch für die gegebene Temperatur konstant bleibt. Hier bedeutet q den freien Querschnitt des Papiers senkrecht zur Stromrichtung, und l die Filterpapierstreifenbreite.

Die Schichtdicke p kann durch die Wägung des trockenen und feuchten Filterpapiers und auf Grund der Kenntnis des spezifischen Gewichts der Elektrolytlösung ermittelt werden. Wir gehen von der Vorstellung aus, als ob das Filterpapier vollkommen trocken wäre und die Elektrolytlösung sich in einer dünnen Schicht auf dem Papier befände. Somit sind die Dimensionen der »Küvette« gegeben, in der sich ein geladenes Teilchen annähernd nach den Gesetzen bewegt, die für die klassische (freie) Elektrophorese gelten. In der III. Mitteilung dieser Reihe soll gezeigt werden, dass die Struktur des feuchten freiaufgespannten Filterpapiers Munktel No. 20/150 tatsächlich nur einen relativ kleinen Widerstand dem Stromtransport leistet.

Abb. 4. gibt die Schichtdicke des Elektrolyts als Funktion der Zeit wieder. Das Filterpapier wurde trocken in die Apparatur montiert, und von selbst durch Kapillarkräfte befeuchtet, so dass zur Zeit Null auch die Schichtdicke p

Null wird. Im Verlauf von ca. 5 Stunden nimmt die Schichtdicke ihren Grenzwert an, und bleibt weiter konstant ohne Rücksicht darauf, ob der Strom eingeschaltet ist oder nicht. Die beiden Kapillarfronten begegnen sich in der Mitte des Papierstreifens schon nach ca. 15 Minuten. In den Experimenten, in denen die Schichtdicke beim Stromdurchgang ermittelt wurde (durch zwei konzentrische Kreise markiert), war die Anfangstromdichte 0,5 mA für je 1 cm

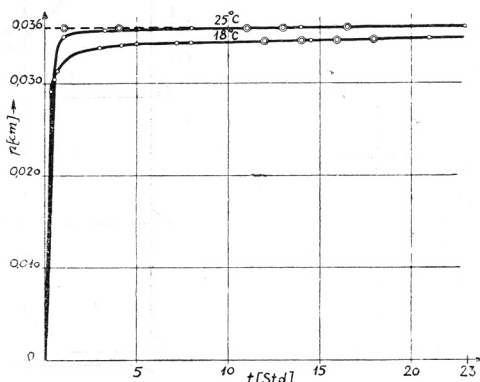


Abb. 4.: Die Schichtdicke des Elektrolyts am Filterpapier Munktell No. 20/150 als Funktion der Zeit.

Slika 4.: Debljina sloja elektrolita na filtarskom papiru Munktell br. 20/150 kao funkcija vremena.

Papierstreifenbreite. Die obere ausgezogene Kurve zeigt die Resultate bei 25°C und Papierstreifenlänge $L = 27$ cm, die untere Kurve zeigt die Resultate bei 18°C und $L = 24$ cm. Die gestrichelte Gerade gibt die Schickdicke bei 25°C an wenn, wie im experimentellen Teil beschrieben wurde, das Filterpapier vor der Montierung mit der Elektrolytlösung befeuchtet wird. Das verwendete Filterpapier war Munktell No. 20/150.

B) Elektrische Messungen nach der schematischen Darstellung in Abbildung 2.

Durch die Kompensationsmethode wurde das Stromspannungsgefälle an den freien Enden des Filterpapiers (ΔE_{II}), im kathodischen und anodischen Syphonsystem (ΔE_{IK} und ΔE_{IA}), und in den mit dem Filterpapier in Kontakt stehenden Räumen II_K und II_A (ΔE_{IIK} und ΔE_{IIA}) in Intervallen von einer Stunde und durch die Zeitperiode von 12 Stunden gemessen. Gleichzeitig wurde auch die Stromstärke durch die Apparatur gemessen, und nach dem Ohmschen Gesetz die zugehörigen Widerstände errechnet. Die Experimentaldaten waren: Papierstreifenlänge $L = 27$ cm, Breite $l = 2$ cm, Veronalpuffer $B = 0,0208$ Mol/Lit, Klemmspannung $U = 140$ Volt, Raumtemperatur $t = 25^\circ\text{C}$. Die Resultate sind in Abb. 5. und 6. wiedergegeben.

Die Spannung an den freien Enden des Filterpapiers nimmt bei Verwendung von stabilisierter Klemmspannung nur unwesentlich mit der Zeit ab, während gleichzeitig der gesamte Widerstand des feuchten Filterpapiers wegen Konzentrierung der Pufferlösung am Filterpapier sehr stark abnimmt. In der

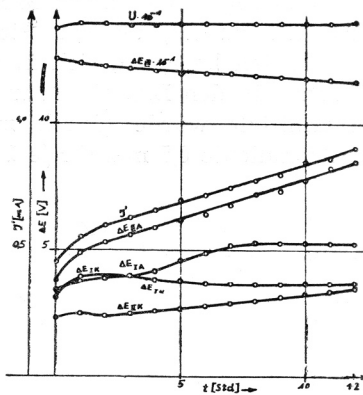


Abb. 5.: Der Spannungsverlauf in den einzelnen Teilen der Apparatur nach der schematischen Darstellung in Abb. 2, als Funktion der Zeit. I' ist die Stromdichte in mA für je 1 cm Papierstreifenbreite. Slika 5.: Promjene napona kao funkcija vremena u pojedinim dijelovima aparature prema šemi koja je prikazana slikom 2. I' je gustoća struje in mA na 1 cm širine papira.

Zeit von 12 Stunden ist der Gesamtwiderstand des Papiers auf die Hälfte des Anfangsbetrages gesunken, während die Stromstärke entsprechend gewachsen ist. Parallel der Stromstärke ist auch die Spannung in den Elektrodengefäßen ausserhalb des Syphonsystems gewachsen, so dass der resultierende Widerstand dieses Teiles der Apparatur bis zum Ende der Messung konstant geblieben ist. Diese Tatsache soll beweisen, dass es am Filterpapier zu keiner Änderung des Puffers infolge von Elektrolyse gekommen ist. Der Stromdurchgang hat am Filterpapier nur eine Konzentrierung des Puffers hervorgerufen. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration hat ausserdem die Konstanz des p_H erwiesen. Die sich auf die Syphonsysteme der Elektrodengefäße beziehenden Kurven zeigen einen Verlauf, der auf die Veränderungen des Elektrolyts in der Umgebung der Stromtransportelektroden deutet.

C) Messung der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier.

Nach der Kompensationsmethode wurde mittels der Elektrodengabel die mittlere apparente Feldstärke am Filterpapier Zentimeter für Zentimeter nach der Zeit gemessen. Die Resultate sind durch Diagramme wiedergegeben. An der Abszisse ist in Zentimetern die mittlere Entfernung von der kathodischen Seite des Filterpapiers $L' = \frac{1}{2}(2L + 1)$, und an der Ordinate die mittlere apparente Feldstärke H in Volt/Zentimeter eingetragen. Die einzelnen sich auf denselben Zeitpunkt beziehenden Messpunkte sind miteinander durch Geraden verbunden. Jede der Kurven ist durch die vom Anfang der Elektrophorese bis zu dem Zeitpunkt der erfolgten Messung abgelaufene Zeit gekennzeichnet.

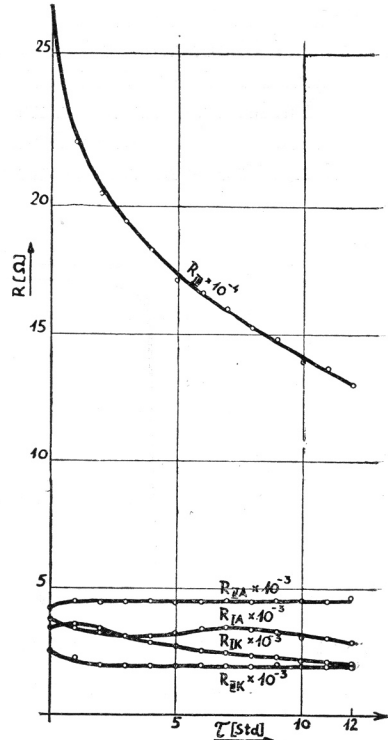


Abb. 6.: Aus den in Abb. 5. wiedergegebenen Messresultaten wurden die elektrischen Widerstände der einzelnen Apparateile nach den Ohmschen Gesetzts errechnet. Slika 6.: Iz rezultata mjerenja koji su prikazani slikom 5. izračunati su po Ohmovom zakonu električni otpori pojedinih dijelova aparature.

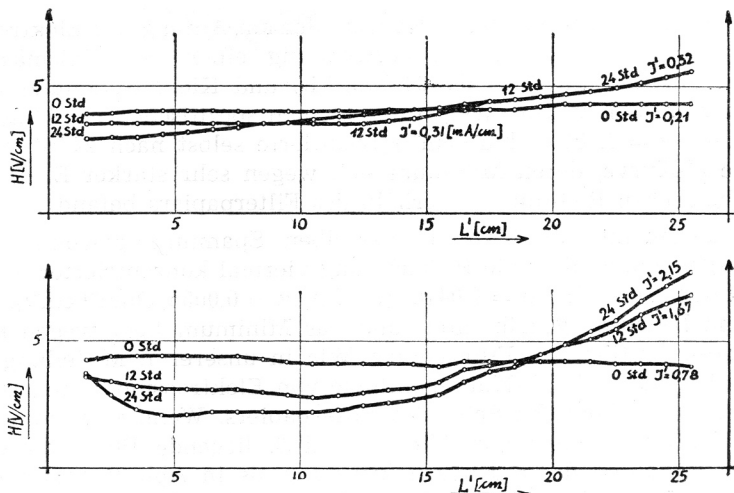


Abb. 7.: Es ist der Verlauf der H -Kurven angegeben, der am Anfang der Elektrophorese, nach 12, und nach 24 Stunden, bei Verwendung von einer verhältnismässig sehr verdünnten Pufferlösung $B = 0,0104$ Mol/Lit, und Klemmspannung $U = 140$ Volt, gemessen wurde. Das Minimum der H -Kurve befand sich ausserhalb des Filterpapiers in der Richtung der Kathode.

Slika 7.: Prikazan je tok H -krivulja na početku elektrofereze, nakon 12 i nakon 24 sata. Upotrebljena je relativno razrijeđena otopina pufera $B = 0,0104$ Mol/Lit, a napon $U = 140$ V. Minimum H -krivulje nalazio se izvan filteraskog papira u smjeru katode.

Abb. 8.: Die Pufferlösung war viermal konzentrierter als im vorangehenden Versuch $B = 0,0416$ Mol/Lit, $U = 140$ Volt. Eine bedeutende Krümmung der H -Kurven ist wahrnehmbar. Das Minimum liegt am Filterpapier.

Slika 8.: Pufer otopina bila je četiri puta koncentriranija od one u prethodnom pokusu $B = 0,0416$ Mol/lit, $U = 140$ V. H -krivulje teku oštrije, minimum se nalazi na filteraskom papiru.

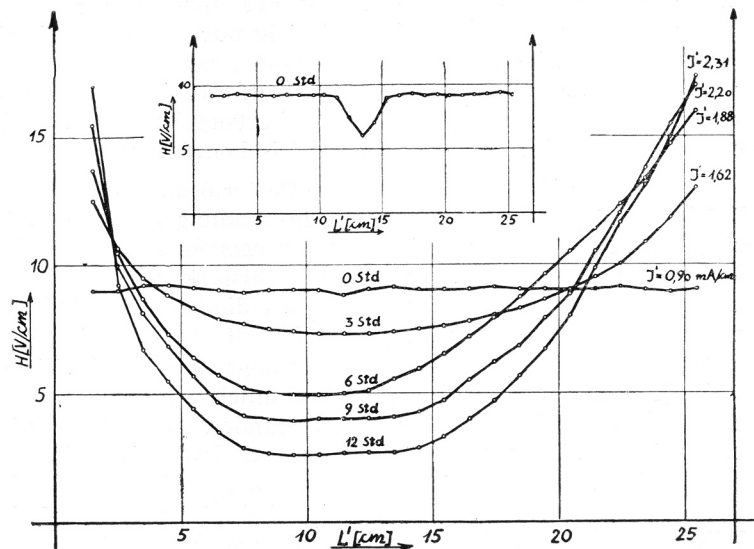


Abb. 9.: Bei Erhöhung der Stromspannung ($U = 280$ Volt) resultieren stark gekrümmte H -Kurven, obwohl die Pufferkonzentration relativ niedrig war ($B = 0,0208$ Mol/Lit). Die H -Kurven zeigen eine relativ kleine Deformation gegen die Kathode. Das kleine Diagramm gibt die H -Kurve zur Zeit Null, die unter sonst gleichen Bedingungen, aber durch kapillare Befeuchtung des Filterpapierstreifens erhalten wurde.

Slika 9.: Uz povećani napon ($U = 280$ V) dobiju se jako zakrivljene H -krivulje, unatoč male koncentracije pufer otopine ($B = 0,0208$ Mol/lit). Krivulje pokazuju relativno malu deformaciju prema katodi. Mali dijagram prikazuje početnu krivulju (za vrijeme nula), koja je dobivena pod istim uvjetima, ali uz kapilarno navlaživanje filteraskog papira.

Abb. 7. gibt den Verlauf der H -Kurven, der am Anfang der Elektrophorese, und nach 12 bzw. 24 Stunden bei Verwendung einer verhältnismässig sehr verdünnten Pufferlösung ($B = 0,0104$ Mol/Lit) und Klemmspannung von $U = 140$ Volt gemessen wurde. Wegen der kleinen spezifischen Leitfähigkeit der Pufferlösung ($\kappa = 0,0016$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$) resultierte selbst nach 24 Stunden eine sehr flache H -Kurve, deren Minimum sich wegen sehr starker Elektrosmose in der kathodischen Richtung ausserhalb des Filterpapiers befand.

Das Diagramm in Abb. 8. ist bei derselben Spannung gewonnen worden (140 V), ausgenommen dass die Pufferlösung viermal konzentrierter war als im vorangehenden Versuch ($B = 0,0416$ Mol/Lit, $\kappa = 0,0056$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$). Die H -Kurven sind bedeutend gekrümmter, und das Minimum liegt wegen kleinerer Elektrosmose deutlich am Filterpapier. Wie in unserer I. Mitteilung vorausgesagt wurde, zeigen die H -Kurven infolge von Elektrosmose eine Deformierung gegen die kathodische Seite des Filterpapiers. Wenn wir eine zwischen den Pufferkonzentrationen aus Abb. 7. und 8. liegende Pufferkonzentration verwenden, verlaufen die H -Kurven krümmter als in Abb. 7. und flacher als in Abb. 8. wiedergegeben ist, was im Einklang steht mit unseren diesbezüglichen Behauptungen in Mitteilung I. Bei Verwendung von Pufferlösung der Konzentration $B = 0,0208$ Mol/Lit, stand das Minimum der H -Kurve am Filterpapier und zwar am 4 und 5 Zentimeter von der kathodischen Seite entfernt, d. h. es stand bedeutend mehr nach rechts als in Abb. 7., und bedeutend mehr nach links als in Abb. 8. wiedergegeben ist. Dieses Diagramm wurde hier nicht wiedergegeben. Es wird aber deutlich ersichtlich, wenn wir uns eine Experimentreihe vorstellen, in der wir nur die Konzentration der Pufferlösung ändern, dass die kathodische Deformierung der H -Kurven mit steigender Pufferkonzentration abnimmt. Dieses kommt nicht nur wegen des Herabsinkens des ξ Potentials mit der Konzentrierung zustande, sondern in viel grösserem Masse durch die kapillarische Zuströmung der Pufferlösung, was übrigens auch aus unserer Problemstellung in Mitteilung I. hervorgeht (Puffergeschwindigkeitskurve als Funktion der momentaner elektrischen Leistung).

Wenn wir nun das Experiment mit der Pufferlösung $B = 0,0208$ Mol/Lit ($\kappa = 0,0031$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$) unter erhöhter Klemmspannung $U = 280$ Volt wiederholen, resultieren Kurven, die in Abb. 9. wiedergegeben sind. Die H -Kurven sind stark gekrümmt, die minimale apparente Feldstärke nach 12 Stunden war 2,6 Volt/cm, d. h. sogar bedeutend niedriger als die minimale Feldstärke bei Verwendung desselben Puffers und $U = 140$ Volt die nach 12 Stunden 4,0 Volt/cm betrug. Damit wurden unsere Behauptungen auch bezüglich der Form der Feldstärkenkurven als in Abhängigkeit befindlich von der Klemmspannung (Mittlg. I.) experimentell bemessen. Nach 12 Stunden stand das Minimum am 10. und 11. Zentimeter. Daraus ergibt sich, dass die kathodische Deformierung der Kurven mit der Erhöhung der Stromspannung abnimmt, was leicht zu deuten ist, da die elektroosmotische Geschwindigkeit proportional der Spannung, und die Puffergeschwindigkeit gleichzeitig von der elektrischen Leistung abhängig ist, die ihrerseits dem Quadrat der Klemmspannung proportional ist. In doppelt kleinerem Masstabe ist der Feldstärkeverlauf am Anfang der Elektrophorese d. h. zur Zeit Null auf Abb. 9. beigelegt, welcher erhalten wird, wenn man das Filterpapier nicht wie im experimentellen Teil beschrieben wurde, sondern trocken in die Apparatur montiert, und abwartet, bis die

Schichtdicke der Pufferlösung p durch Kapillarkräfte ihren konstanten Wert erreicht. Ein solcher Feldstärkeverlauf zeigt in der Mitte des Filterpapierstreifens, wo sich die beiden Fronten der kapillarisch zugeströmten Pufferlösung begegnet sind, einen scharfen Zacken, der auf die erhöhte Konzentration oder Leitfähigkeit der Pufferlösung auf diesem Ort deutet. Es war uns in keiner Weise möglich, diesen Effekt zu beseitigen, er blieb sogar quantitativ unverändert, wenn wir durch künstliche Übersättigung der feuchten Atmosphäre mit Wasserdampf während der kapillarischen Befeuchtung jede Verdunstung von der Papieroberfläche verhinderten. Es scheint uns sehr unwahrscheinlich, dass ein so scharfer Zacken durch die Verdunstung zustande kommen könne, da die Verdunstung, unserer Ansicht nach, eine kontinuierend verlaufende Defor-

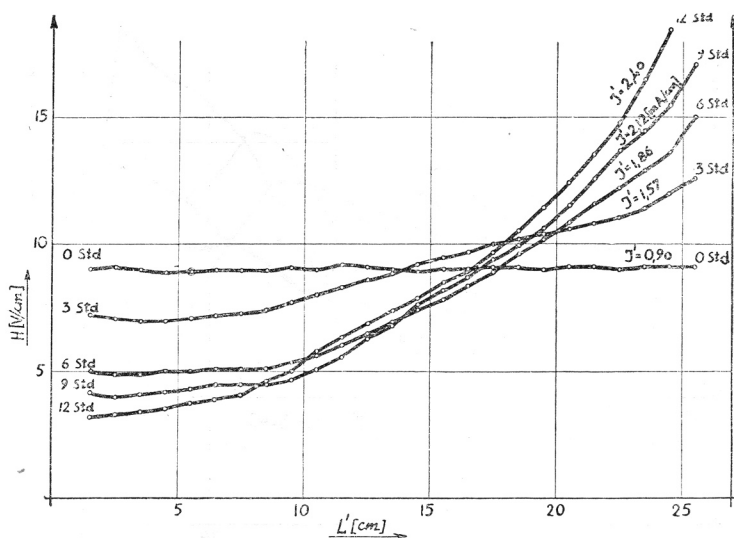


Abb. 10.: Eine Wiederholung des Experiments aus Abb. 9 mit der Änderung, dass das anodische Elektrodengefäß etwas gehoben wurde, und damit wurde der Filterpapierstreifen gegen die Kathode in einem Winkel von $1^{\circ}30'$ zu der Horizontale geneigt. Es blieb am Filterpapier nur der rechte Teil der H -Kurven übrig.

Slika 10.: Eksperiment isti kao i na slici 9, samo je anodna elektrodna posuda nešto podignuta, tako da je traka filtarskog papira nagnuta prema katodnoj posudi, te je sa horizontalom zatvarala kut od $1^{\circ}30'$. Na filtarskom papiru preostao je samo desni krak H -krivulja.

mation ausüben würde. Im weiteren Verlauf der Elektrophorese verschwindet dieser Zacken allmählich, und die H -Kurven nehmen ihre normale Form an. Da wir anfänglich den Filterpapierstreifen durch kapillarische Befeuchtung zur Messung bereitstellten, mussten wir, um die Zackenbildung zu umgehen, alle bereits ausgeführten Messungen wiederholen, indem wir das Filterpapier nach der im experimentellen Teil beschriebenen Methode vor der Messung befeuchteten.

Abb. 10. zeigt eine Wiederholung des Experiments, das durch Abb. 9. bereits wiedergegeben wurde, aber so, dass das anodische Elektrodengefäß etwas gehoben wurde, so dass das Papier gegen die Kathode in einem Winkel von $\alpha = 1^{\circ}30'$ zu der Horizontale geneigt war. Wegen des ungleichen Puffer-

niveaus wurde ein zusätzlicher und konstanter Geschwindigkeitsvektor der Pufferlösung in der Richtung von der Anode zur Kathode erzielt. Wie zu erwarten war, blieb am Papier nur der rechte Teil der H -Kurve übrig, und da die Kurven jetzt ausgedehnter erschienen, kann man eine Verminderung der Feldstärkegradienten dH/dL' in bezug auf Abb. 9. wahrnehmen.

Das Experiment wurde bei erhöhter Spannung $U = 280$ Volt, und horizontalem Filterpapier wiederholt, aber diesmal wurde statt Pufferlösung eine $n/100$ KCl Lösung ($\kappa = 0,0014 \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) verwendet (Abb. 11.). Da das Filterpapier durch Kapillarwirkung befeuchtet wurde, zeigt die H -Kurve am Anfang des Experiments in der Mitte des Filterpapierstreifens einen ausserordentlich scharfen Zacken, der bedeutend schärfer ist als der, der am kleinen Diagramm im Falle von Pufferlösung in Abb. 9. bereits wiedergegeben wurde. Wegen des

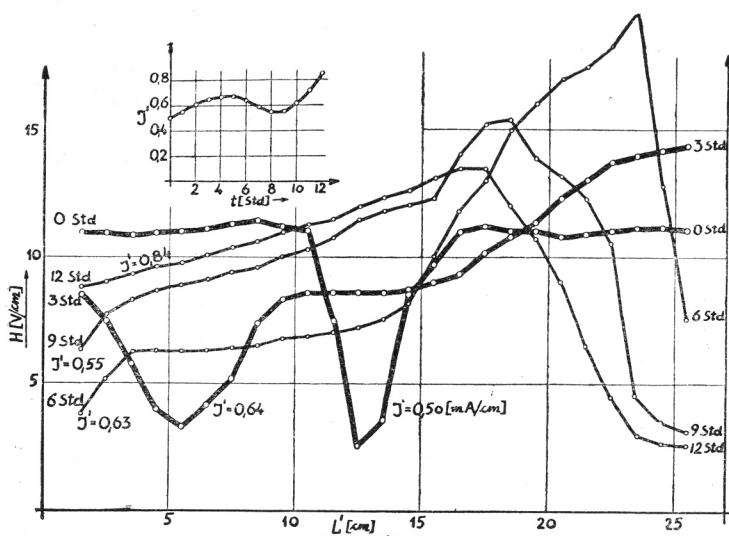


Abb. 11.: Statt Pufferlösung wurde $n/100$ KCl Lösung unter Kapillarbefeuhtung des Filterpapierstreifens verwendet. Die Klemmspannung war $U = 280$ Volt. Weitere Erläuterungen im Text.
Slika 11.: Mjesto pufer-otopine upotrebljena je $n/100$ KCl otopina. Navlaživanje filterskog papira je kapilarno, a upotrebljeni napon $U = 280$ V. Daljnja tumačenja su u tekstu.

starken apparenten Elektroosmoseeffektes, der infolge kleiner Salzkonzentration bzw. spezifischer Leitfähigkeit ausgelöst wurde, wanderte das Minimum in bereits 6 Stunden in der kathodischen Richtung vom Filterpapier aus. Es blieb am Filterpapier nur der rechte Teil der H -Kurven, und das Bild würde dem in Abb. 10. wiedergegebenen gleichen, wenn von der anodischen Seite nicht plötzlich eine neue Deformation sich zeigte. Wegen Mangel an Pufferkapazität der $n/100$ KCl Lösung, drangten die schnellen H -Ionen schon nach ca. 5 Stunden aus dem anodischen Elektrodengefäß auf das Filterpapier. Durch eine Erhöhung der Leitfähigkeit wurde eine Verminderung der Feldstärke hervorgerufen. Durch Deformationen der H -Kurven kann man diese kathodische Bewegung sowie den Zuwachs der H -Ionenkonzentration in der Richtung zur Anode fast in alle Einzelheiten schön verfolgen. Mit der Zeit

scheint diese H-Ionenkonzentration am Filterpapier sich einem Grenzwert zu nähern (Kurve 9 Std. und 12 Std.).

Die Stromdichte I' (das kleine Diagramm) wächst nicht etwa nach dem in Abb. 5. bereits wiedergegebenen Musterbild einfach mit der Zeit an. Nach ca. 4 Stunden wurde ein Maximum der Stromdichte erhalten. In diesem Augenblick ist der Zacken dicht am kathodischen Ende des Filterpapierstreifens angelangt. Zwischen der vierten und fünften Stunde wanderte die Spitze des Zackens vom Filterpapier aus, und dadurch blieb I' ungefähr konstant. Da die Leitfähigkeit des Filterpapiers allmählich durch die Auswanderung des Zackens vermindert wurde, wurde nach ca. 5 Stunden ein Abfallen der Stromdichte registriert. Nach ca. 8 Stunden wurde aber plötzlich ein starkes Anwachsen der Stromdichte wahrgenommen, da sich infolge des Ausbrechens der schnellen H-Ionen aus dem anodischen Elektrodengefäß die Erhöhung der Filterpapierleitfähigkeit bemerkbar machte.

SCHLUSSBEMERKUNGEN

In dieser Experimentenreihe waren wir wegen sonst schwer zu umgehender Schwierigkeiten gezwungen, die Bedingungen der Elektrophorese in feuchter Kammer etwas zu modifizieren, indem der Filterpapierstreifen zwischen den Elektrodengefäßen nicht vollkommen frei aufgespannt, sondern durch eine Glasplatte von unten unterstützt war. Die dadurch etwas veränderten Bedingungen sind praktisch unwesentlich, was auch mehrere Parallelversuche ohne Glasplatte bestätigen. Wir haben die unterstützende Glasplatte eingeführt, um das Messen zu erleichtern, und damit ausserdem wegen grösserer Gleichmässigkeit der Bedingungen am Filterpapier die Resultate besser reproduzierbar werden. Die Empfindlichkeit der Messung der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier hängt von der Empfindlichkeit des Nullinstrument-Galvanometers, der spezifischen Leitfähigkeit des Elektrolyts am Filterpapier und von der Länge der am Papier anliegenden Platindrahtelektroden, bzw. von der am Papier anliegenden Elektrodenoberfläche weitgehend ab. Darum wurde für die Messung statt der Papierstreifenbreite 1 cm als Breite des Papierstreifens 2 cm gewählt.

Da alle bereits angegebenen Messungen immer in Zeitintervallen von einer Stunde vorgenommen wurden, sind die veröffentlichten Resultate der mittleren apparenten Feldstärkemessung nur als ein Auszug zu betrachten.

Für die liebenswürdige Unterstützung der Arbeiten und Realisierung der Experimentalapparatur sind wir Herrn Dr. I. Ruždić, Vorstand des Zentralen Medizinisch-Chemischen Laboratoriums Zagreb, zu grossem Dank verpflichtet. Weiter danken wir Herrn Đ. Pale und V. Češnjak für die Ausbaue einzelner Geräte.

LITERATUR

1. Z. Pučar, *Arhiv kem.* **25** (1953) 205.
2. Z. Pučar, *Bulletin des Jug. Patentamtes* (1953) No. II.
3. Z. Pučar, *Acta Pharm. Jug.* **4** (1954) (im Druck)

IZVOD

Prilog upoznavanju elektroforeze na filtarpapiru metodom vlažne komore
II. Električna mjerenja

Zvonimir Pučar

Opisana je eksperimentalna aparatura vlastite konstrukcije za elektroforezu na filtarskom papiru metodom vlažne komore, s pomoću koje su za vrijeme elektroforeze, pod različitim režimima rada, mjerene promjene otopine pufera, odnosno elektrolita, u elektrodnim posudama i na filtarskom papiru. Pri isparivanju puferotopine s površine papir se ne suši, jer s oba kraja istodobno navlači kapilarno otopinu elektrolita iz elektrodnih posuda. Eksperiment je pokazao, da debljina sloja elektrolita na filtarskom papiru $p = q/l$ (gdje je q slobodan prijesjek papira okomit na smjer struje, a l širina papira) ostaje praktički za zadanu temperaturu konstantna, bez obzira na to, da li struja kroz papir prolazi ili ne. (Početna gustoća struje $I' = 0,5$ mA/cm, papir Munktell br. 20/150).

Zatim je kompenzacionom metodom mjereno pad napona na krajevima papira, te u sifonskom i vansifonskom dijelu elektrodnih posuda prema šemi na slici br. 2. Mjerenje je vršeno 12 sati, u intervalima od jednoga sata. Istodobno je mjerena i jakost struje, koja prolazi kroz aparaturu, pa su po rezultatima mjerenja izračunani i odnosi otpori. Ako se radi s ispravljačem stabiliziranog napona, pad napona na krajevima papira s vremenom opada samo neznatno; istodobno opada naglo otpor papira, jer se koncentrira pufer. U slučaju, što ga prikazuju dijagrami na slikama br. 5 i 6, otpor je pao u vremenu od 12 sati na polovinu svoje početne vrijednosti, a jakost struje razmjerno je porasla. Usporedno s jakošću struje raste i pad napona u vansifonskom prostoru, tako da je rezultirajući otpor do kraja mjerenja ostao na tom mjestu konstantan; to je ujedno i dokaz, da na papiru nije uslijed elektrolize moglo doći do promjene pufera (izuzevši koncentriranje). Krivulje napona, odnosno otpora u sifonskom dijelu elektrodnih posuda govore o promjeni kod elektrolita uslijed elektrolize.

Krivulje srednje aparentne jakosti električnog polja na filtarskom papiru mjerene su tako, da je za vrijeme elektroforeze (posebno u eksperimentalnu aparaturu ugrađenim sistemom platinskih elektroda) sukcesivno, centimetar po centimetar, mjereno (kompenzacionom metodom) pad napona na udaljenosti od jedan centimetar, i to počevši od katodne strane filtarskoga papira. Mjerenja su vršena svaki sat, pa je tako dobivena slika promjena srednje aparentne jakosti električnog polja i po vremenu (slike 7 do 11). Rezultati tih mjerenja u saglasnosti su s predodžbama, koje su iznesene u prvom saopćenju¹, to jest:

1. Jakost električnog polja duž filtarskoga papira nije konstantna, pa se u određenom momentu može prikazati krivuljom, koja pokazuje jedan minimum.

2. Te su krivulje to plosnatiije, što je kvocijent A/q manji (A = električna radnja, q = slobodan prijesjek filtarskoga papira okomit na smjer struje).

Opisana mjerenja srednjih aparentnih jakosti električnog polja pokazuju nadalje, da se katodna elektroosmotska deformacija krivulja električnog polja na filtarskom papiru smanjuje usporedno s povećavanjem vodljivosti elektrolita ili pojačavanjem električnoga napona.

Prilikom mjerenja upotrebljena je puferotopina Na-veronal Na-acetat HCl, pH = 8,60, koja je opisana i u prvom saopćenju. Koncentracija Na-acetata bila je opet $c = B \times 1,415$ Mol/lit, gdje je B koncentracija disociiranog dijela dietilbarbiturne kiseline u Mol/lit. Dužina trake filtarskoga papira Munktell br. 20/150 bila je $L = 27$ cm, a širina $l = 2$ cm. Podaci o specifičnim vodljivostima otopina odnose se na 25°C.