

CCA-47

537.363

Beiträge zur Kenntnis der Papierelektrophorese in feuchter Kammer. V. Kontinuierliche Elektrophorese mit Blockierung der Elektroden durch eine Membrane

Zvonimir Pučar

Institut »Ruđer Bošković«, Zagreb, Kroatien, Jugoslavien

Eingegangen am 25. November 1956

Durch Aufkleben von Cellophanstreifen an die Elektrodenrinnen der Apparatur für kontinuierliche Elektrophorese wird wegen vollkommener Dichtung der Elektrodenrinnen der Verlust der Pufferlösung oder Elektrolytlösung vermieden, was von Bedeutung für ein aufsichtsloses kontinuierliches Spülen der Elektrodenrinnen im Dauerbetrieb ist. Dadurch werden aber die horizontale oder elektrophoretische und die vertikale oder chromatographische Komponente der Bahnen grundsätzlich verändert. Diese Veränderungen werden in diesem Aufsatz theoretisch und experimentell bearbeitet. Im Abschnitt Zusammenfassung und Diskussion wird die Arbeitsweise mit der Membran mit der Arbeitsweise ohne Membran verglichen, und auf Vorteile bzw. Nachteile hingewiesen.

EINLEITUNG

Nachdem wir in der vorangehenden Mitteilung¹ unter anderem die Grundlagen der kontinuierlichen Papierelektrophorese in feuchter Kammer besprochen haben, wollen wir jetzt über eine prinzipielle Abänderung der Arbeitsweise berichten.

Wenn wir an die Elektrodenrinnen (katodische und anodische) (Mittlg. IV.) jeweils einen 20 mm. breiten Klebestreifen aus Cellophan dicht anbringen, und erst dann das eigentliche Filtrierpapier mittels der schaumgummibeleagten Elektrodenbalken an die Cellophanstreifen und die beiden Elektrodenrinnen anpressen, dann werden die horizontale oder elektrophoretische und auch die vertikale oder chromatographische Komponente der Bahnen Grundsätzlich verändert.

THEORETISCHE BETRACHTUNGEN

Die Cellophanmembran verhindert in grossem Ausmass die Kapillarsaugwirkung des Filtrierpapiers in horizontaler Richtung, und das Filtrierpapier kann den durch Stromwärme bzw. Verdunstung entstandenen Verlust des Wassers in der Horizontalrichtung durch Ansaugen der Elektrolytlösung aus den Elektrodenrinnen nicht ersetzen. Es können sich in der Horizontalrichtung keine Gradienten der Elektrolytkonzentration ausbilden, da die kapillare Elektrolytgeschwindigkeit in der Horizontalrichtung gleich Null ist ($w' = 0$), und demzufolge die elektrische Feldstärke (H) an jedem Ort des Filtrierpapiers konstant ist ($dH/ds = 0$).

Die vertikale Elektrolytgeschwindigkeit (W) ist, im Gegenteil zu der in Mitlg. IV. besprochenen Arbeitsweise, keinesfalls konstant, sie fällt in der Richtung von oben nach unten wegen Verdunstung und Konzentrierung des Elektrolyts ab. Diese Verminderung der Vertikalgeschwindigkeit ist begreiflicherweise eine Funktion der Elektrolytleitfähigkeit und der elektrischen Feldstärke allein, und sie ist unabhängig von der Filtrierpapierdicke. Die Neigungen der Bahnen der Teilchen gegen die Vertikale wachsen stetig in der Richtung von oben nach unten, da der Tangens des Neigungswinkels $\text{tg } \alpha = uH/W$ ist.

Je grösser die Elektrolytleitfähigkeit und die Feldstärke gewählt werden, desto schneller wachsen die Neigungen der Bahnen in der Richtung von oben nach unten.

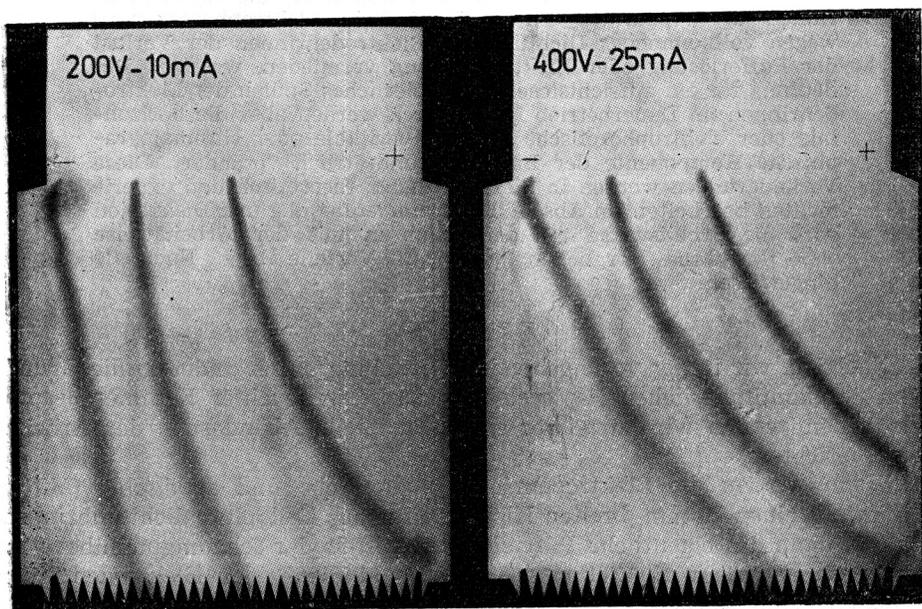


Abb. 1. Kontinuierliche Elektrophorese des Chlorphenolrots in Borsäure — Na Acetat — NaOH

Pufferlösung von $p^H = 8,6$ und Ionenstärke $\mu = 0,012$. Filtrierpapier Munktell No. 20/150. Die Farbstofflösung wurde gleichzeitig an drei verschiedenen Stellen der Apparatur zugeführt. Links: 200 Volt und 10 mA. Die Durchlaufzeit war 3 Stunden und 45 Minuten. Rechts: 400 Volt und 25 mA. Die Durchlaufzeit war 4 Stunden und 15 Minuten. Die Krümmungen der Bahnen sind wegen grösserer elektrischer Feldstärke im rechten Bild grösser als im linken Bild. Die Bahnen laufen annähernd parallel. Chlorphenolrot wird elektrophoretisch in zwei Fraktionen zerlegt: in eine dunkelrote mit grösserer Beweglichkeit (im Bilde gut sichtbar), und eine gelbe mit viel kleinerer Beweglichkeit.

Sl. 1. Kontinuirana elektforeza klorfenolnog crvenila u puferu borna kiselina — Na acetat —

NaOH, $p^H = 8,6$, ionska jakost $\mu = 0,012$. Filtarpapir Munktell br. 20/150. Otopina boje dovodila se aparaturi istodobno na tri različita mjesta. Lijevo 220 V i 10 mA., vrijeme protjecanja 3 sata i 45 minuta. Desno 400 V i 25 mA., vrijeme protjecanja 4 sata i 15 minuta. Putanje na desnoj slici imaju, zbog veće jakosti električnoga polja veću zakrivljenost od putanja na lijevoj slici. Putanje su približno paralelne. Klorfenolno crvenilo rastavlja se elektforetski u dvije frakcije: u tamnocrvenu s većom pokretljivošću (na slikama dobro vidljiva frakcija) i svijetlozutu sa mnogo manjom pokretljivošću.

EXPERIMENTELLES

Die Experimentalapparatur wurde bereits in der vorangehenden Mitteilung dieser Reihe ausführlich beschrieben¹. Als Membran zur Blockierung der Elektroden wurde ein 20 mm. breiter Cellophanklebestreifen (Minnesota Mining & MFG. Co. U. S. A.) verwendet.

Der Kontinuierliche Elektrophorese wurde eine Farbstofflösung von Chlorphenolrot unterworfen, nachdem durch vorzeitiges Einschalten des Stromes der stationäre Zustand erreicht war. Als Elektrolyt diente eine Borsäure — Na — Acetat — NaOH Pufferlösung von $pH = 8,6$ und Ionstärke $\mu = 0,012$. Die Zusammensetzung der Pufferlösung wurde bereits in Mittlg. IV. angegeben. Die Farbstofflösung wurde gleichzeitig an drei verschiedenen Stellen der Apparatur zugeführt. Wir hatten jeweils Chlorphenolrot in zwei elektrophoretisch getrennten Fraktionen erhalten: eine dunkelrote mit grösserer Beweglichkeit (in der Abbildung gut sichtbar), und eine gelbe mit viel kleinerer Beweglichkeit (in der Abbildung nur schwach sichtbar). Abb. 1 links gibt die Bahnen bei 200 Volt und 10 mA., und rechts bei 400 Volt und 25 mA. wieder. Die Bahnen laufen annähernd parallel. Die Durchlaufzeit war für 200 Volt 3 Stunden und 45 Minuten, und für 400 Volt, entsprechend stärkerer Verdunstung, 4 Stunden und 15 Minuten.

Abb. 2 gibt als Funktion der Zeit die Vertikalgeschwindigkeiten der Farbstofffronten wieder, die alle 15 Minuten gemessen wurden. »a« und »b« sind die entsprechenden Durchlaufzeiten, d. h. die zwischen Einlauf und Auslauf der Substanz aus

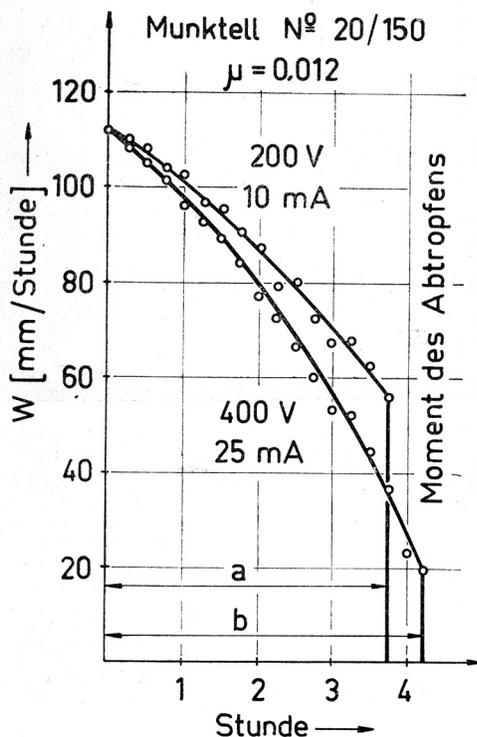


Abb. 2. Die vertikale Komponente (W) als Funktion der Zeit, und auf ein der Elektrophorese unterworfenen Teilchen bezogen. In Experimenten, die in Abb. 1. wiedergegeben sind, wurden die Vertikalgeschwindigkeiten der Farbstofffronten alle 15 Minuten gemessen. »a« und »b« sind die Durchlaufzeiten für das in Abb. 1. links, bzw. rechts, wiedergegebene Experiment.

Sl. 2. Vertikalna komponenta kao funkcija vremena, i to s obzirom na česticu, koja je podvrgnuta elektroforezi. U eksperimentima, koji su prikazani na slici 1., mjerena je svakih 15 minuta vertikalna brzina bojenih fronta. »a« i »b« je vrijeme protjecanja za eksperimente prikazane na slici 1. lijevo, odnosno desno.

der Apparatur abgelaufene Zeit. Mit der Zeit, d. h. je mehr die Teilchen in der Vertikalrichtung nach unten fortschreiten, fällt die Vertikalgeschwindigkeit, d. h. die Vertikalkomponente, in dem Masse ab, wie es die verwendete elektrische Feldstärke und Elektrolytleitfähigkeit bestimmen, und die Neigungen der Bahnen gegen die Vertikale werden immer grösser. Deswegen sind die Krümmungen der Bahnen in Abb. 1 rechts grösser als in Abb. 1 links.

In Abb. 3 wurde das Experiment Mittlg. IV. Abb. 7 wiederholt, aber jetzt mit Membrantechnik. Durchlaufzeit und Stromstärke sind bedeutend gewachsen: ohne Membran 3 Stunden 30 Minuten und 20 mA. (Mittlg. IV.), und mit Membranblockierung (diese Mittlg.) 4 Stunden 15 Minuten und 25 mA. Da auch die Substanzzufuhrstelle dieselbe war, sind die beidem Abbildungen unmittelbar vergleichbar. Wegen grösserer Krümmungen der Bahnen sind alle Fraktionen jetzt weiter gewandert.

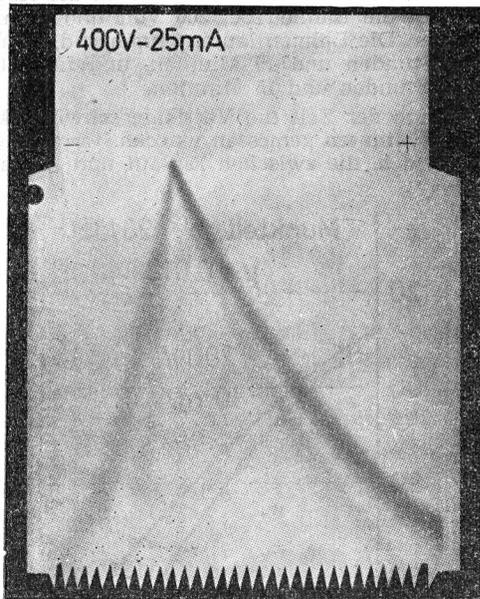


Abb. 3. Kontinuierliche Elektrophorese einer Mischung von Tropäolin O(T), Fluorescein (F), Chrophenolrot (P), Rosolsäure (R_1 und R_2), Chrysoidin Y(Ch) und Nitranilin (N). Alle Experimentaldaten wie im Experiment Abb. 1. rechts. Dieses Experiment entspricht den in Mittlg. IV. Abb. 7. veröffentlichten. Da auch die Substanzzufuhrstelle die gleiche war, sind die beiden Abbildungen unmittelbar miteinander vergleichbar. Man beachte die Durchlaufzeiten und Stromstärken: Ohne Membran 3 Stunden 30 Minuten und 20 mA (Mittlg. IV.), und mit Membranblockierung (diese Mittlg.) 4 Stunden 15 Minuten und 25 mA. Wegen grösserer Krümmungen der Bahnen sind alle Fraktionen bedeutend weiter gewandert.

Sl. 3. Kontinuirana elektroforeza smjese tropeolina O(T), fluoresceina (F), klorfenolnog crvenila (P), rozolne kiseline (R_1 i R_2), krisoidina Y(Ch) i nitranilina (N). Eksperimentalni podaci kao na slici 1. desno. Ovaj eksperiment odgovara eksperimentu objavljenom u priopćenju IV. slika 7. Kako je i mjesto dovodenja substance na filterski papir bilo u oba slučaja isto, obje slike možemo neposredno međusobno usporediti. Treba upozoriti na vrijeme protjecanja i jakost struje: bez membrane 3 sata 30 minuta i 20 mA (priopćenje IV.), s membranom (ovo priopćenje) 4 sata 15 minuta i 25 mA. Zbog veće zakrivljenosti putanja sve su frakcije putovale znatno dalje.

ZUSAMMENFASSUNG UND DISKUSSION

Die beschriebene Arbeitsweise mit Blockierung der Elektroden durch eine Membran hat ein geringeres Auflösungsvermögen als die in der vorangehenden Mitteilung dargestellte, da die Möglichkeit der Auflösung der Fraktionen nur von der Differenz der Beweglichkeiten abhängig ist ($u_1 - u_2$).

Die Auflösungsmöglichkeit der Arbeitsweise ohne Membran ist grösser, da sie auch noch von der Form der Bahnen der Teilchen abhängt, bzw. auch noch vom absoluten Betrag von »u«, wegen der Bedingungen für apparente Beschleunigung und Verzögerung in der Horizontalrichtung $udH/ds \gtrless dw'/ds$.

Charakteristisch für die kontinuierliche Elektrophorese in feuchter Kammer mit Membranblockierung der Elektroden ist, dass je nach dem Arbeitsregime alle Bahnen ausnahmslos kleinere oder grössere Krümmungen im Sinne der apparenten Beschleunigung aufweisen. Wegen der relativ starken Krümmungen der Bahnen ist diese Arbeitsweise für zweidimensionale Elektrophorese nur beschränkt geeignet. Sie hat aber bei kontinuierlicher Arbeit einen grossen praktischen Vorteil, da das Dichten der Elektrodenrinnen durch Aufkleben der Membranen vollkommen ist, und demzufolge kein Verlust der Pufferlösung auftritt, was von ausschlaggebender Bedeutung für das aufsichtslose kontinuierliche Spülen der Elektrodenrinnen im Dauerbetrieb ist.

Fotos: Aus dem Fotolaboratorium des Instituts Ruđer Bošković.

LITERATUR

1. Z. Pučar, *Croat. Crem. Acta* **28** (1956) 195.

IZVOD

Prilog upoznavanju elektroforeze na filtarpapiru metodom vlažne komore. V. Kontinuirana elektroforeza sa blokiranjem elektroda s pomoću membrane

Zvonimir Pučar

Ako na elektrodne žljebove¹ aparature za kontinuiranu elektroforezu nalijepimo ljepljivu celofansku traku široku 20 mm, postizemo potpuno brtvljenje elektroda bez gubitaka pufer-otopine, odnosno otopine elektrolita, a to je praktički važno za kontinuirano ispiranje elektroda kod dugotrajnih eksperimenata. Kod opisanog načina rada horizontalna je ili elektroforetska komponenta (uR/H) svagdje na papiru konstantna, jer je jakost električnoga polja (H) konstantna, i jer je horizontalna kapilarna brzina pufera ili otopine elektrolita $w' = 0$.

Vertikalna ili kromatografska komponenta $W' = R_1W$ opada zbog isparivanja u smjeru odozgo prema dolje. Stoga su sve putanje više ili manje zakrivljene u smislu aparentnog ubrzanja, već prema upotrebljenom radnom režimu.

Kod rada sa blokiranjem elektroda s pomoću membrane razdvajanje ovisi samo o razlici u pokretljivosti dviju komponenata ($u_1 - u_2$), pa je mogućnost njihova razdvajanja manja nego kod rada bez membrane, gdje razdvajanje ovisi još i o apsolutnom iznosu od »u« zbog uvjeta za aparentno ubrzanje ili usporenje u horizontalnom smjeru ($udH/ds \gtrless dw'/ds$). Zbog relativno jakih zakrivljenosti putanja opisani se način rada može samo u ograničenom opsegu primjenjivati za dvodimenzionalnu elektrokromatografiju.