

Beiträge zur Kenntnis der Papierelektrophorese in feuchter Kammer III. Die Verwertung der H-Kurven*

Zvonimir Pučar

Zentrales Medizinisch-Chemisches Laboratorium, Zagreb, Kroatien, Jugoslawien

Eingegangen am 27. Januar 1954

Die zur Elektrophorese verwendete Pufferlösung besteht gewöhnlich aus einem Puffersystem, der das p_H garantiert, und einem System von neutralen Salzen, die zusammen mit dem Puffersystem die erforderliche elektrische Leitfähigkeit der Lösung erteilen. Es wird die mittlere apparente Feldstärke an einem bestimmten Ort des Filterpapierstreifens als Funktion der Stromdichte und des betreffenden Konzentrierungsfaktors δ_i dargestellt. Daraus ergibt sich die Stromspannung an den freien Enden des Filterpapierstreifens als Funktion der Stromdichte und der momentanen Konzentrierungskurve (δ_i -Kurve) am Filterpapierstreifen sowie die Berechnung von Pufferlösungen, die ausser p_H auch eine für die Elektrophorese günstige elektrische Leitfähigkeit besitzen. Aus den in Mitteilung II. dieser Reihe veröffentlichten Resultaten der elektrischen Messungen wurden die Konzentrierungskurven und die Volumina des von der Papieroberfläche verdunsteten Wassers berechnet, und bei verschiedenen Arbeitsregimen miteinander verglichen.

EINLEITUNG

Nachdem wir uns in der II. Mitteilung dieser Reihe¹ mit der objektiven elektrischen Messung der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier vertraut machten, versuchen wir jetzt die durch die Messung erfassten H-Kurven quantitativ zu verwerten. Da die Inkonstanz der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier nur durch die Verdunstung, d. h. Konzentrierung, zu stande kommt, wollen wir diese Verdunstung bei Variation des Arbeitsregimes und unter Zuhilfenahme der experimentellen Messresultate theoretisch verfolgen. Da die theoretischen Ableitungen, wennmöglich, eine universelle Geltung aufweisen sollen, wird man befriedigt sein müssen, die Resultate als eine Annäherung zu betrachten.

Eine Pufferlösung die zu Elektrophorese verwendet wird, ist gewöhnlich zusammengestellt aus einem Puffersystem, der das p_H garantiert, und einem System von neutralen Salzen, die zusammen mit dem Puffersystem die elektrische Leitfähigkeit bestimmen. Mit dem Puffersystem allein ist es gelegentlich unmöglich für die Praxis, eine Pufferlösung mit der für die Elektrophorese nötigen elektrischen Leitfähigkeit zu erhalten. Das gilt sogar im Falle, dass eine nur aus dem Puffersystem bestehende Pufferlösung in der für die nötige Leit-

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

fähigkeit erforderlichen Konzentration erhalten werden kann. So würden wir, zum Beispiel, im Falle des reinen Veronalpuffers, der für die Elektrophorese der Serumeiweisskörper in feuchter Kammer die erforderliche Leitfähigkeit besitzt, alsbald eine starke Kristallisation des im Wasser sonst relativ schwer löslichen Veronals an der Anode bemerken, weil durch die Elektrolyse die Umgebung der Anode bald mit Veronal übersättigt wird. Diese Kristallisation blockiert die Anode, der elektrische Widerstand des anodischen Syphonsystems vergrößert sich stark, und dadurch wird die Elektrophorese verhindert. Das Puffersystem, das als schwache Säure Veronal enthält, ist aber wegen der relativ günstigsten Konstante der elektrolytischen Dissoziation der diethylbarbitursäure für die Elektrophorese der Serumeiweisskörper bei $p_H = 8,60$ unentbehrlich.

THEORETISCHER TEIL

Da sich die Pufferlösung oder Elektrolytlösung während der Elektrophorese in feuchter Kammer am Filterpapier konzentriert, können wir den Konzentrierungsfaktor $\delta_i = C_i/C_0$ einführen, wo C_0 die Anfangskonzentration der Pufferlösung, und C_i die Konzentration der Pufferlösung am Filterpapier in der Entfernung » i « vom kathodischen Ende des Filterpapierstreifens nach einer bestimmten Zeit bedeutet. Es interessiert uns zunächst die Abhängigkeit der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier von dem momentanen Konzentrierungsfaktor δ_i an diesem Ort und der Stromstärke durch den Filterpapierstreifen. Der Strom, den eine Ionenart transportiert, ist bekanntlich:

$$I_i = \frac{F \Delta E}{1000} \frac{f}{h} z_i \alpha_i C_i u_i \quad \dots \dots \dots (1)$$

Nach Kohlrauschs Gesetz der unabhängigen Ionenwanderung ergibt sich für eine willkürlich zusammengestellte Elektrolytlösung:

$$I = \Sigma I_{ki} + \Sigma I_{ai} \quad \dots \dots \dots (2)$$

Hier bedeutet: I die Gesamtstromstärke in Ampère (A); I_{ki} die Stromstärke, die eine bestimmte Kationenart trägt (A); I_{ai} die Stromstärke, die eine bestimmte Anionenart trägt (A); z_i die elektrische Ladung der Ionen; F Faraday (96500 Coulomb); u die Ionenbeweglichkeit ($\text{cm}^2\text{sek}^{-1}\text{Volt}^{-1}$); ΔE Stromspannung (Volt); f die Elektrodenoberfläche (cm^2); und h der Elektrodenabstand (cm).

Aus (1) und (2) ergibt sich im allgemeinen:

$$I = \frac{F \Delta E}{1000} \frac{f}{h} (\Sigma z_{ki} \alpha_{ki} C_{ki} u_{ki} + \Sigma z_{ai} \alpha_{ai} C_{ai} u_{ai}) \quad \dots \dots (3)$$

Der undissoziierte Anteil des Puffersystems leitet den Strom nicht. Der dissoziierte Anteil des Puffersystems ist B (Mol/Lit). Der dissoziierte und der undissoziierte Anteil des Puffersystems sind bekanntlich durch die Gleichung

$$p_H = p_k + \log \frac{B}{C - B} \text{ gebunden, wo } C - B \text{ den undissoziierten Anteil bedeutet.}$$

Die Konzentrationen der anderen Salze in der Pufferlösung sind C_1, C_2, \dots, C_n . Gleichung (3) können wir schreiben:

$$I = \frac{F \Delta E}{1000} \frac{f}{h} [B(z_k u_k + z_a u_a) + C_1(z_{k1} \alpha_{k1} u_{k1} + z_{a1} \alpha_{a1} u_{a1}) + \dots + C_n(z_{kn} \alpha_{kn} u_{kn} + z_{an} \alpha_{an} u_{an})] \dots \dots \dots (4)$$

Das Konzentrieren der Pufferlösung wird keinen Einfluss auf die Konzentrationsverhältnisse der einzelnen Komponenten ausüben. Es werden folgende Konzentrationsverhältnisse eingeführt:

$$C_1/B = \beta_1 \quad C_2/B = \beta_2 \quad C_n/B = \beta_n$$

Man kann noch für $h/f = K$ die Widerstandskapazität des Gefäßes einführen, und bekommt:

$$I = \frac{F \Delta E}{1000} \frac{1}{K} B [(z_k u_k + z_a u_a) + \beta_1(z_{k1} \alpha_{k1} u_{k1} + z_{a1} \alpha_{a1} u_{a1}) + \dots + \beta_n(z_{kn} \alpha_{kn} u_{kn} + z_{an} \alpha_{an} u_{an})] \dots \dots \dots (5)$$

Da uns in den eckigen Klammern die Beweglichkeiten »u« und die Dissoziationsgrade der einzelnen Salze »α« nicht bekannt sind, können wir anstatt der eckigen Klammer ψ schreiben. Es ergibt sich, dass ψ eine Funktion der momentanen Pufferkonzentration ist.

$$I = \frac{F \Delta E}{1000 K} B \psi \dots \dots \dots (6) \quad \psi = \varphi(B) \dots \dots \dots (7)$$

Aus (6), und für $\kappa = K/R$, wo κ die spezifische Leitfähigkeit der Puffer —, bzw. Elektrolytlösung, und R den elektrischen Widerstand bedeutet:

$$\psi = \frac{1000 I K}{F \Delta E B} = \frac{1000}{F B} \times \frac{K}{R_B} = \frac{1000}{F B} \kappa_B \dots \dots \dots (8)$$

Hier soll κ_B bedeuten, dass κ_B eine Funktion von B ist. $\kappa_B = \varphi'(B)$

Wenn ΔE am Filterpapierstreifen der Breite $l = 1$ cm gemessen wird, und zwar zwischen zwei Punkten, die 1 cm voneinander in der Stromrichtung entfernt sind ($L = 1$ cm) und deren mittlere Entfernung vom kathodischen Ende des Filterpapierstreifens »i« Zentimeter beträgt, erhält man die mittlere apparente Feldstärke an diesem Ort des Filterpapierstreifens $\Delta E_i = H_i$.

K ist die Widerstandskapazität des Gefäßes, oder im konkreten Falle die Widerstandskapazität des feuchten Filterpapiers, das angesehen werden kann als ein Gefäß, in dem sich die Pufferlösung befindet. Wir können uns die Widerstandskapazität eines Stücks quadratischen Filterpapiers der Dimension 1×1 cm vorstellen. Diese Widerstandskapazität K_0 ist eine Konstante, die nur von der Filterpapierqualität abhängig, und von der Puffer — oder Elektrolytlösung unabhängig ist. Für $K = K_0 \frac{L}{l}$, $L = 1$ cm, und $l = 1$ cm folgt $K = K_0$.

Aus (8):
$$\Delta E_i = \frac{1000 I' K_0}{F B_i} \frac{1}{\psi} \dots \dots \dots (9)$$

I' ist die Stromdichte, d. h. Stromstärke für je 1 Zentimeter Filterpapierstreifenbreite.

Wegen der allmählichen Konzentrierung der Pufferlösung am Filterpapier nehmen die Äquivalentleitfähigkeiten der Komponenten ab. Es kann für einen beschränkten Konzentrationsintervall praktisch angenommen werden, dass für

$\frac{1}{\psi} = \varphi''(B)$ eine lineare Gesetzmässigkeit besteht. Wenn wir in die Gleichung (9) den Konzentrierungsfaktor $\delta_i = B_i/B^0$ einführen, wo B^0 die Anfangskonzentration des dissoziierten Anteils der schwachen Säure des Puffersystems, und B_i die Konzentration desselben nach dem Konzentrieren am i -ten Zentimeter des Filterpapierstreifens bedeutet^{1,2} und für $\frac{1}{\psi} = \varphi''(B) = aB_i + b = a\delta_i B^0 + b$

$$\text{so folgt: } \Delta E_i = \frac{1000 I' K_o}{F B^0} \left(aB^0 + \frac{b}{\delta_i} \right) \dots \dots \dots (11)$$

Hier sind a und b Konstanten der Pufferlösung, die abhängig sind von den Verhältniszahlen β .

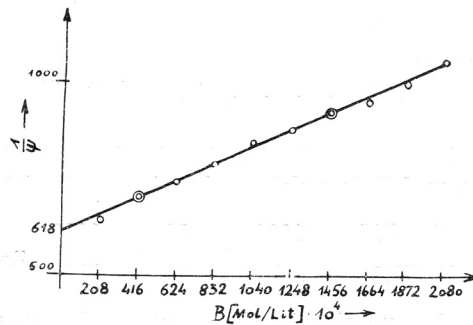


Abb. 1.: $\frac{1}{\psi}$ nach Gleichung (8) als Funktion der Konzentration des dissoziierten Anteils der Diethylbarbitursäure für das Na-Veronal Na-Acetat HCL Puffer, $p_H = 8,60$ und Konzentration des Na-Acetats $c = 1,415 \times B$. Die Temperatur war 25°C .

Slika 1.: $\frac{1}{\psi}$ prema jednadžbi (8) kao funkcija disociiranog dijela dietilbarbiturne kiseline za puffer Na-veronal Na-acetat HCl, $p_H = 8,60$ i koncentraciju Na-acetata $c = 1,415 \times B$. Temperatura je bila 25°C .

Abbildung 1. gibt $\frac{1}{\psi}$ als Funktion von B für eine Pufferlösung, die sich für die Elektrophorese der Serumeiweisskörper ($L = 27 \text{ cm}$) gut bewährt hat. Die Zusammenstellung der Pufferlösung wurde in Mittlg. II. dieser Reihe angegeben¹.

Die Pufferkonstanten für $B^0 = 0,0208 \text{ Mol/Lit}$ sind: $p_H = 8,60$, $\mu = 0,0536$, $\beta_1 = C_{\text{Na-Acet.}}/B = 1,415$, $\beta_2 = C_{\text{NaCl}}/B = 0,164$, $\kappa_{25^\circ \text{C}} = 0,0031 \text{ (Ohm}^{-1}\text{cm}^{-1}\text{)}$, $a_{25^\circ \text{C}} = 2150$, $b_{25^\circ \text{C}} = 618$.

In diesem Falle, bei $p_H = 8,60$, wird die Essigsäure mit $p_K = 4,76$ wegen vollkommener Dissoziation als starker Elektrolyt behandelt. Die Stromspannung an den freien Enden des Filterpapierstreifens ΔE_{III} ist:

Aus (11):
$$\Delta E_{III} = \sum_{i=1}^{i=L} \Delta E_i = \frac{1000 I K_o}{F} \left(a L + \frac{b}{B^0} \sum_{i=1}^{i=L} \frac{1}{\delta_i} \right) \dots (12)$$

Für $R_i = \frac{\Delta E_i}{I}$ ergibt sich aus (11) der Konzentrierungsfaktor an einem bestimmten Ort des Filterpapierstreifens zu:

$$\delta_i = \frac{1000 K_o b}{B^0 (F \cdot R_i - 1000 K_o a)} \dots (13)$$

Die Berechnung der Pufferlösung.

Aus (12) ist es möglich, bei gegebenen Salzverhältnissen β die Konzentration eines ausser dem p_H auch die erforderliche Leitfähigkeit für ein gegebenes Arbeitsregime aufweisenden Puffersalzgemisches zu berechnen.

Wenn B^0 die Konzentration des dissoziierten Anteils der schwachen Säure des Puffersystems in Mol/Lit, C^0 die Gesamtkonzentration der schwachen Säure des Puffersystems in Mol/Lit, bedeutet, und p_K sich auf die schwache Säure des Puffersystems bezieht, dann folgt aus (12):

$$B^0 = \frac{1000 I K_o b \sum_{i=1}^{i=L} \frac{1}{\delta_i}}{F \Delta E_{III} - 1000 I K_o a L} \dots (14)$$

$$C^0 = B^0 10^{p_K - p_H} (1 + 10^{p_H - p_K}) \dots (15)$$

Die Bedeutung der Konstante K_o .

H. G. Kunkel und A. Tiselius haben³, in Zusammenhang mit der Bestimmung der Beweglichkeit einzelner Serumweissfraktionen mittels der Elektrophorese am Filterpapier zwischen den Glasplatten den Quotienten des apparenten und wirklichen von den Kolloidteilchen im Filterpapier zurückgelegten Wegs L/L' eingeführt. Offensichtlich ist der wirkliche Weg durch die Struktur des Filterpapiers grösser als der apparente ($L' > L$). Dieser Quotient ist eine Charakteristik des Filterpapiers, und ist unabhängig von verwendetem Elektrolyt. Damit ist auch der Unterschied zwischen der apparenten Feldstärke im Papier H und der wirklichen Feldstärke H' gegeben durch:

$$H' = H \frac{L}{L'}, \text{ wo } L' = R q \kappa, \frac{L}{L'} = \frac{L}{R l p \kappa} \dots (16)$$

Die genannten Autoren haben durch Messung zwischen den Glasplatten bei +3°C für Munktellpapier No. 20/150 den Wert $L/L' = 0,77 \pm 0,03$ gefunden.

Wir können uns ein Gefäss denken, dass eine Widerstandskapazität K_{theor} hat, die gleich der Widerstandskapazität der Elektrolytschicht am Filterpapier mit den Dimensionen 1×1 cm ist (Mittlg. II.), und zwar im idealen theoretischen Falle, d. h. im Falle, dass das Papier, d. h. die Struktur des Papiers, dem Stromtransport keinen Widerstand entgegensetzt.

Wegen $K = \frac{L}{f} = \frac{L}{lp}$, und für $L = 1, l = 1, K_{theor} = \frac{1}{p}$ (17)

Die wirkliche Feldstärke H' ist:

$$H' = H \frac{K_{theor}}{K_0} = \frac{H}{K_0 p} \quad \dots \dots \dots (18)$$

Es soll noch bewiesen werden, dass $\frac{K_{theor}}{K_0}$ bzw. $\frac{1}{K_0 p}$ identisch ist mit L/L' nach der Gleichung (16).

Wegen $K = R \kappa, K_0 = K \frac{l}{L}, K_0 = \frac{R \kappa l}{L}$ (19)

es ergibt sich aus (19):

$$\frac{1}{K_0 p} = \frac{L}{R \kappa l p} \quad \dots \dots \dots (20)$$

Aus (16) und (20) folgt:

$$\frac{1}{K_0 p} = \frac{L}{L'}, \text{ oder } \frac{K_{theor}}{K_0} = \frac{L}{L'} \quad \dots \dots \dots (21)$$

Damit ist die Gleichung (18) bewiesen.

Die Bestimmung der Konstante K_0 .

Um den numerischen Betrag der Konstante K_0 am freiaufgespannten Filterpapierstreifen in der feuchten Kammer zu bestimmen, wurde die folgende Gleichung verwendet:

$$K_0 = \frac{\Delta E_{III} l \kappa}{I L} \quad \dots \dots \dots (22)$$

Wegen grösserer Genauigkeit der Bestimmung wurde die Stromspannung durch die Kompensationsmethode an den freien Enden des Filterpapierstreifens gemessen, und zwar unter der Voraussetzung, dass die mittlere apparente Feldstärke längs des Filterpapierstreifens konstant ist. Diese Bedingung ist unmittelbar nach dem Einschalten des Stromes erfüllt, unter der Voraussetzung, dass der Filterpapierstreifen vor der Montierung in die Apparatur auf die in Mitteilung II. bereits beschriebene Weise behandelt, bzw. mit der Elektrolytlösung befeuchtet war. Die erforderlichen Messungen wurden möglichst rasch, und unter gleichzeitiger Kontrolle der Konstanz der mittleren apparenten Feldstärke am Filterpapier ausgeführt. Methode und Apparatur, die dabei Verwendung fanden, wurden in der II. Mitteilung dieser Reihe beschrieben.

Die Bestimmung der Konstante K_0 wurde mittels der n/100 KCl Lösung durchgeführt. Die spezifische Leitfähigkeit bei 20°C war $\kappa = 0,00128 \text{ Ohm}^{-1}\text{cm}^{-1}$. Die Länge des Filterpapierstreifens war $L = 27 \text{ cm}$, die Breite $l = 2 \text{ cm}$, und das verwendete Filterpapier war Munktell No. 20/150. Die Messresultate waren: $p = 0,0360 \text{ cm}$, $\Delta E_{III} = 109 \text{ Volt}$, und $I = 0,00340 \text{ Ampère}$. Daraus folgt:

$$K_0 = 30,4 \text{ cm}^{-1} \quad \frac{K_{theor}}{K_0} = \frac{1}{K_0 p} = 0,914$$

$$K_{theor} = 27,8 \text{ cm}^{-1}$$

Es ist offensichtlich, dass das Verhältnis L/L' , bzw. K_{theor}/K_0 , wenn am Filterpapier zwischen Glasplatten gemessen wird, keine nur von der Filterpapierqualität abhängige Konstante ist, sondern dass es auch noch von dem Druck abhängig ist,

mit dem der Filterpapierstreifen zwischen die Glasplatten gepresst wird. Die Charakteristik des Filterpapiers kann man daher nur durch die Messung im freiaufgespannten Filterpapierstreifen in feuchter Kammer erhalten.

Aus den bereits beschriebenen Messungen ist es ersichtlich, dass das Filterpapier nur einen relativ sehr kleinen Widerstand der Ionenwanderung durch seine Struktur bietet, bzw. dass der wahre Weg der Ionen durch die Struktur des Filterpapiers von dem apparenten Wege nur um 9,4% grösser ist.

Der Konzentrierungsfaktor δ_i und das Volumen des von der Papieroberfläche verdunsteten Wassers.

Nach Gleichung (13) wurde der Konzentrierungsfaktor am Filterpapier δ_i Zentimeter für Zentimeter berechnet, und zwar nach den in Mitteilung II. veröffentlichten *H-Kurven*. Es wurde bei jedem Arbeitsregime nur die *H-Kurve* verwertet, die nach 12-stündigen Stromdurchgang erhalten war. Damit ist gleichzeitig eine unmittelbare Vergleichung der Veränderungen ermöglicht, die am Filterpapier während der Elektrophorese stattfanden.

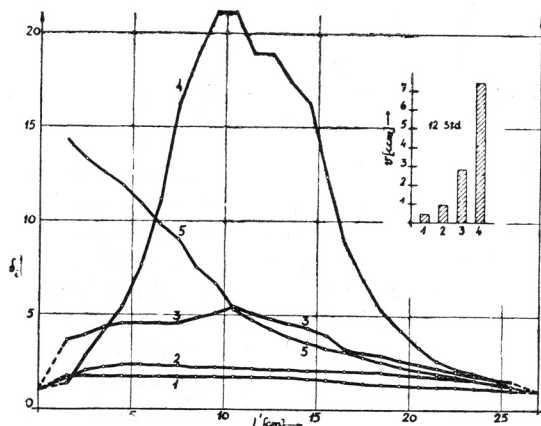


Abb. 2.: Die Kurven wurden an Hand von Gleichung (13) aus den in Mitteilung II. bereits veröffentlichten Resultaten der elektrischen Messungen berechnet, und zwar für die Elektrophoresedauer von 12 Stunden. Die Versuchsdaten waren:

Kurve 1.: (Mittlg. II. Abb. 7.) $B^0 = 0,0104$ Mol/Lit
 $\kappa = 0,0016$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$
 $U = 140$ Volt
 $I' = 0,31$ mA/cm

Kurve 2.: $B^0 = 0,0208$ Mol/Lit
 (In Mittlg. II. sind $\kappa = 0,0031$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$
 die *H-Kurven* nicht $U = 140$ Volt
 wiedergegeben $I' = 0,87$ mA/cm
 worden)

Kurve 3.: $B^0 = 0,0416$ Mol/Lit
 (Mittlg. II. $\kappa = 0,0056$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$
 Abb. 8.) $U = 140$ Volt
 $I' = 1,67$ mA/cm

Kurve 4.: $B^0 = 0,0208$ Mol/Lit
 (Mittlg. II. $\kappa = 0,0031$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$
 Abb. 9.) $U = 280$ Volt
 $I' = 2,31$ mA/cm

Kurve 5.: $B^0 = 0,0208$ Mol/Lit
 (Mittlg. II. $\kappa = 0,0031$ Ohm $^{-1}$ cm $^{-1}$
 Abb. 10.) $U = 280$ Volt
 $I' = 2,40$ mA/cm
 Neigung $1^\circ 30'$

Am kleinen Diagramm sind die nach Gleichung (23) berechneten Volumina des von der Papieroberfläche verdunsteten Wassers für die δ -Kurven 1, 2, 3, und 4 graphisch wiedergegeben worden. Slika 2.: Krivulje su izračunate prema jednačbi (13) iz rezultata mjerenja *H*-krivulja, koji su objavljeni u drugom saopćenju. Sve krivulje se odnose na vrijeme prolaza struje od 12 sati. Eksperimentalne podatke vidi u njemačkom tekstu. Na malom dijagramu prikazani su grafički volumeni isparene vode sa površine filterpapira, koji se odnose na δ -krivulje 1, 2, 3, i 4, a izračunati su prema jednačbi (23).

In Abb. 2. ist an der Ordinate der Konzentrierungsfaktor δ_i , und an der Abszisse die Entfernung vom kathodischen Ende am Filterpapierstreifen eingetragen. Aus Abb. 2. ist es ersichtlich, dass bei Beibehaltung einer konstanten Stromspannung $U = 140$ Volt die Konzentrierung am Filterpapierstreifen mit der Anfangskonzentration der Pufferlösung, bzw. deren spezifischer Leitfähigkeit stark zunimmt (Kurve 1, 2, und 3).

Bei Verdoppelung der Stromspannung ($U = 280$ Volt), und unter Verwendung derselben Pufferlösung nimmt die Konzentration ausserordentlich stark gegen die Mitte des Filterpapierstreifens zu, und die δ -Kurven zeigen einen den Gausschen Kurven ähnlichen Kurvenverlauf (Vergleich der Kurven 2 und 4). Das Maximum der Kurve 5. liegt ausserhalb des Filterpapierstreifens, wegen der Neigung des Elektrophoresesystems im Winkel $\alpha = 1^{\circ}30'$ gegen die Kathode.

Wenn einmal eine δ -Kurve für einen bestimmten Zeitpunkt bekannt ist, ist es auf einfache Weise möglich, das Volumen des von Anfang der Elektrophorese bis zu dem Zeitpunkt vom Filterpapierstreifen bereits verdunsteten Wassers nach der folgenden Formel zu berechnen:

$$v = \left(\frac{\sum_i^L \delta_i}{L} - 1 \right) Llp = \left(\sum_i^L \delta_i - L \right) lp \dots \dots \dots (23)$$

Die Resultate für die δ -Kurven 1, 2, 3, und 4, Länge des Filterpapierstreifens $L = 27$ cm, Breite $l = 1$ cm, sind am kleinen Diagramm in Abb. 2. graphisch dargestellt. Wenn die Volumina des von der Papieroberfläche verdunsteten Wassers proportional der Stromleistung am Anfang der Elektrophorese wären, müssten die Volumina $v_1 : v_2 : v_3 : v_4$ sich ungefähr wie 1 : 2 : 4 : 8 verhalten. Wir sehen aber, dass die Volumverhältnisse des verdunsteten Wassers nach 12-stündiger Elektrophoresedauer 1 : 2 : 6 : 15 sind. Dieser grössere Anwuchs der Verdunstung ist durch die stärkere Vergrösserung der Leitfähigkeit der Pufferlösung am Filterpapier während der Elektrophorese infolge Pufferkonzentration bedingt. Die Konzentrierung der Pufferlösung ist vom Arbeitsregime abhängig, und dadurch werden die Volumverhältnisse des verdunsteten Wassers von dem totalen Betrag der verwendeten elektrischen Arbeit abhängig.

LITERATUR

1. Z. Pučar, *Arhiv kem.* 26 (1954) 29.
2. Z. Pučar, *Arhiv kem.* 25 (1953) 205.
3. H. G. Kunkel und A. Tiselius, *J. Gen. Physiol.* 35 (1951) 89.

IZVOD

Prilog upoznavanju elektroforeze na filtarpapiru metodom vlažne komore III. Evaluacija H-krivulja

Zvonimir Pučar

Puffer-otopina za elektroforezu sastoji se obično od puffer-sistema, koji zajamčuje p_H , i od sistema neutralnih soli, koje zajedno s puffer-sistemom uvjetuju električnu vodljivost otopine. Izvedene su ove jednadžbe:

1. Jednadžba koja omogućuje aproksimativno izračunavanje srednje aparentne jakosti električnoga polja na i -tom centimetru papirne trake, počevši od katode, i to po gustoći struje i faktoru koncentriranja δ_i na tom mjestu. $\delta_i = C_i/C_0$, gdje je C_0 početna koncentracija pufera, a C_i koncentracija pufera na i -tom centimetru papirne trake nakon nekoga vremena.

2. Izvedna je relacija, koja pokazuje ovisnost pada napona na krajevima papira o gustoći struje i krivulji koncentriranja elektrolita na papiru (t. j. svih δ_i).

3. Izvedena je jednadžba za izračunavanje elektrolita, odnosno pufera (sa zadanim p_H), koji je prikladan za elektroforezu s obzirom na električnu vodljivost.

4. Prikazana je relacija, koja služi za preračunavanje aparetne jakosti električnoga polja u filtarskom papiru u stvarnu jakost električnog polja.

Prema rezultatima električnoga mjerenja iz II. saopćenja¹ izračunane su krivulje koncentriranja na filtarskom papiru nakon 12-satnoga prolaženja struje, i to za nekoliko različnih radnih režima (mijenjana je koncentracija pufera ili električni napon). Da se dobije slika ovisnosti isparivanja s površine filtarskoga papira o radnom režimu, izračunati su i odnosni volumeni vode isparene s filtarskoga papira, i to po krivuljama koncentriranja, koje se odnose na 12-satnu elektroforezu.