

Électrophorèse de complexes métalliques sur gel de polyacrylamide

par Arsène PETERS,

L.T.E. Couffignal

et Laboratoire de Spectrométrie
et Imagerie Ultrasonores, Strasbourg.

L'électrophorèse sur gel est largement utilisée pour la séparation d'ions ou de protéines. Un aspect intéressant peut être obtenu en utilisant des ions colorés. Nous avons ainsi réalisé les expériences simples suivantes.

On sait que l'acrylamide polymérise en longues chaînes de molécules liées entre elles par des ponts de N N' méthylène bisacrylamide. Comme catalyseur amorceur, on utilise habituellement un système rédox constitué de traces de tétraméthyl éthylène diamine (T.E.M.E.D.) et de peroxodisulfate d'ammonium.

L'ensemble possède une structure maillée tridimensionnelle qui emprisonne l'eau utilisée comme solvant lors de la réaction. Cette structure particulière ralentit les courants de diffusion dans le milieu électrolytique au point de les rendre négligeables au cours d'une expérience d'électrophorèse ; seuls subsistent les courants de migration.

La densité volumique des mailles ainsi que leurs dimensions dépendent d'une part de la concentration totale en polyacrylamide, d'autre part du rapport des quantités d'acrylamide et de bisacrylamide.

Nous avons utilisé des gels à 5 % d'acrylamide et à 0,13 % de bisacrylamide par rapport à la masse totale du gel lors de sa polymérisation.

Les gels sont coulés dans des moules lors de leur fabrication de façon à posséder une épaisseur uniforme (5 mm à 10 mm). On peut les utiliser dans leurs moules transparents ou les déposer sur une plaque de verre.

Il est facile de charger le milieu aqueux interstitiel en divers ions colorés. La méthode la plus simple consiste à utiliser les molécules de T.E.M.E.D. déjà présentes. Ces molécules sont suscep-

tibles de former l'ion complexe $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$ avec l'ion cuivrique.

Ces ions cuivriques peuvent être introduits par simple contact du gel avec des copeaux de cuivre (taches laissées au centre des photos 1, 2, 3, 4) ou par électrophorèse à partir d'un autre morceau de gel ayant séjourné suffisamment longtemps dans une solution de sel cuivrique.

On peut également faire séjourner le gel dans une solution contenant l'ion complexe $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$ obtenue à partir d'une solution de sel cuivrique de concentration connue additionnée de la quantité calculée de T.E.M.E.D. Tout l'ion cuivrique sera pratiquement complexé, la constante de formation de l'équilibre de complexation étant de l'ordre de $10^{20} \text{ mol.l}^{-1}$. L'ensemble du gel apparaît de la couleur bleu foncé de l'ion complexe $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$.

DETERMINATION DIRECTE DE LA MOBILITE DE L'ION COLORE.

Le champ électrique va de l'anode (+) à la cathode (—). Leur migration s'effectuant dans le sens du champ, les ions colorés s'éloignent de la cathode. Le déplacement de la frontière ainsi formée permet une détermination directe de la mobilité de l'ion coloré.

Ce déplacement de l'ion coloré peut se faire dans différentes configurations de champ électrique.

Les photos et figures correspondantes 1, 2, 3, 4 montrent ce déplacement au cours d'une électrophorèse utilisant un gel de forme parallélépipédique, initialement coloré, placé entre électrodes de carbone distantes de $d = 5,15 \text{ cm}$. Au début de l'expérience, le champ électrique peut être considéré comme étant pra-

tiquement uniforme, de valeur $E = \frac{U}{d} = 5,44 \text{ V.cm}^{-1}$. A partir

de la vitesse moyenne $v = 6,7 \cdot 10^{-4} \text{ cm.s}^{-1}$ du déplacement, on déduit la valeur suivante de la mobilité de l'ion $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$:

$$u = \frac{v}{E} = 1,2 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}. \text{ Lorsque les lignes de champ}$$

sont radiales, la frontière correspondant au déplacement de l'ion coloré est cylindrique (photos 5, 6, 7). On peut admettre, du moins au début de l'expérience d'électrophorèse, que la conductivité du gel est sensiblement constante. Le calcul de l'expression de la résistance et du champ électrique pour une couronne cylindrique conductrice homogène sont classiques.

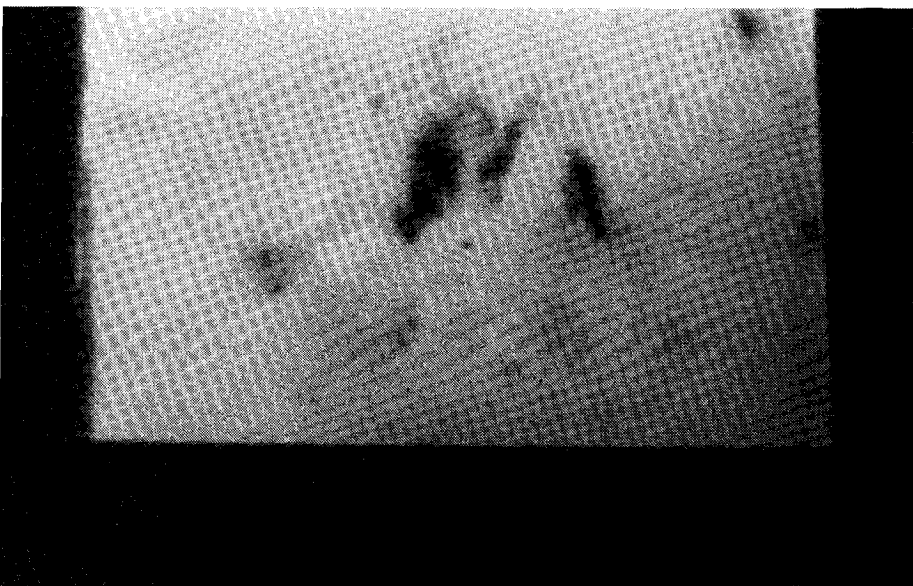
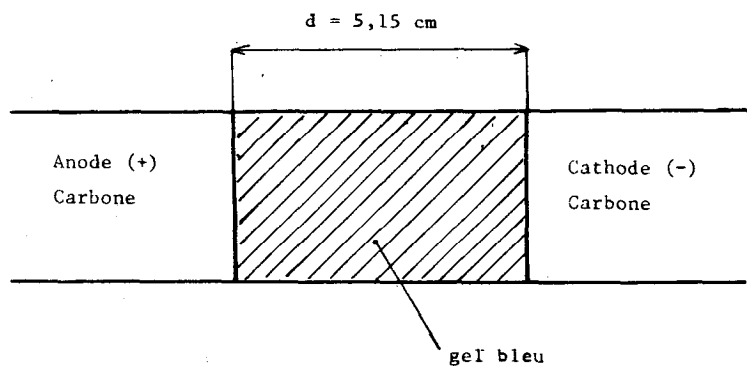
Photo 1. — $t \approx 0$ min, $U \approx 28$ V, $I \approx 12$ mA.

Fig. 1

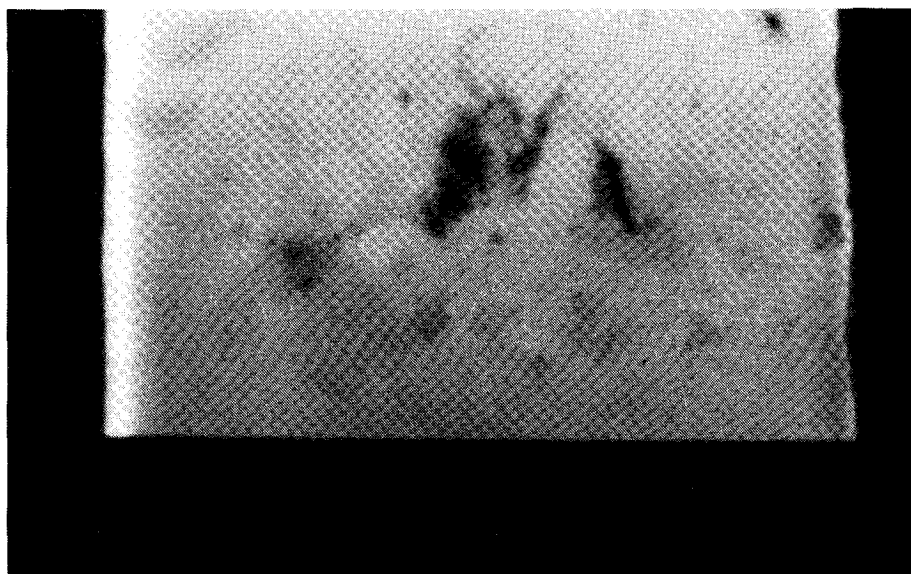


Photo 2. — $t = 5 \text{ min}$,

$U = 28 \text{ V}$,

$I = 12 \text{ mA}$.

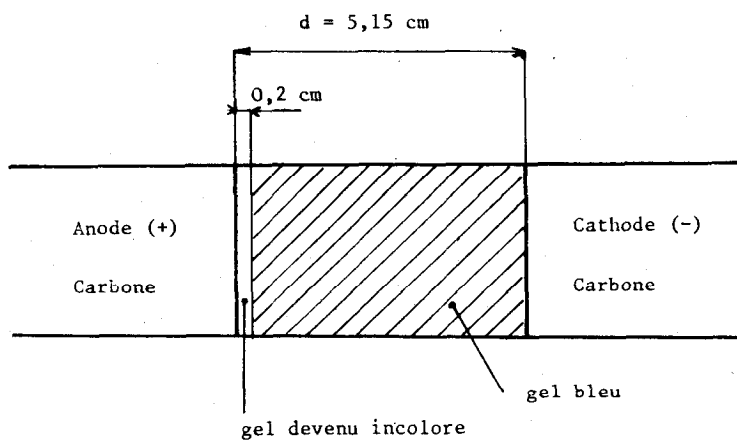


Fig. 2. — Vitesse : $v = \frac{0,2 \text{ cm}}{300 \text{ sec}} = 6,7 \times 10^{-4} \text{ cm. s}^{-1}$.

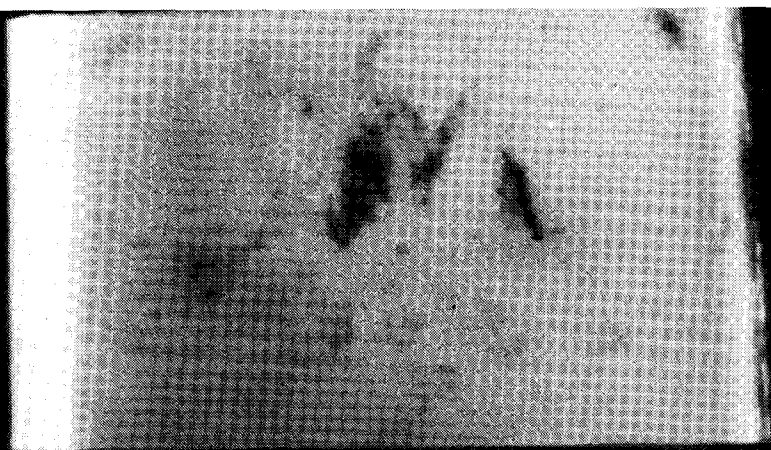


Photo 3. — $t = 15 \text{ min}$,

$U = 28 \text{ V}$,

$I = 9 \text{ mA}$.

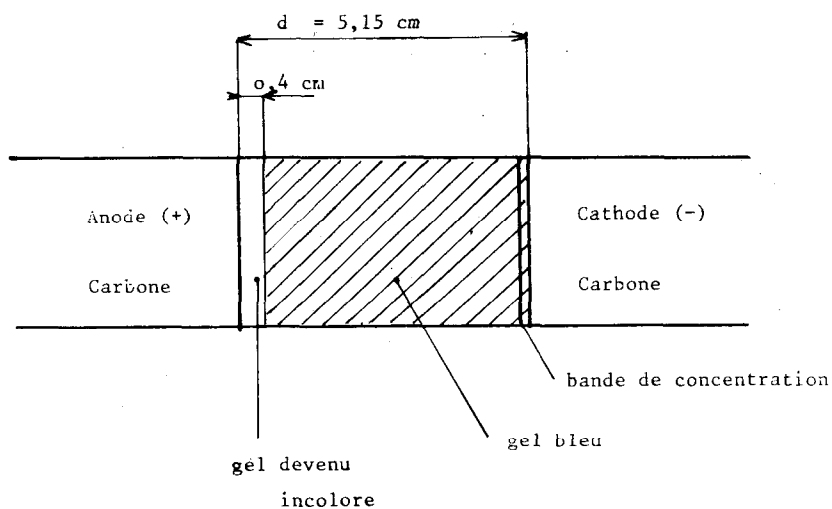


Fig. 3

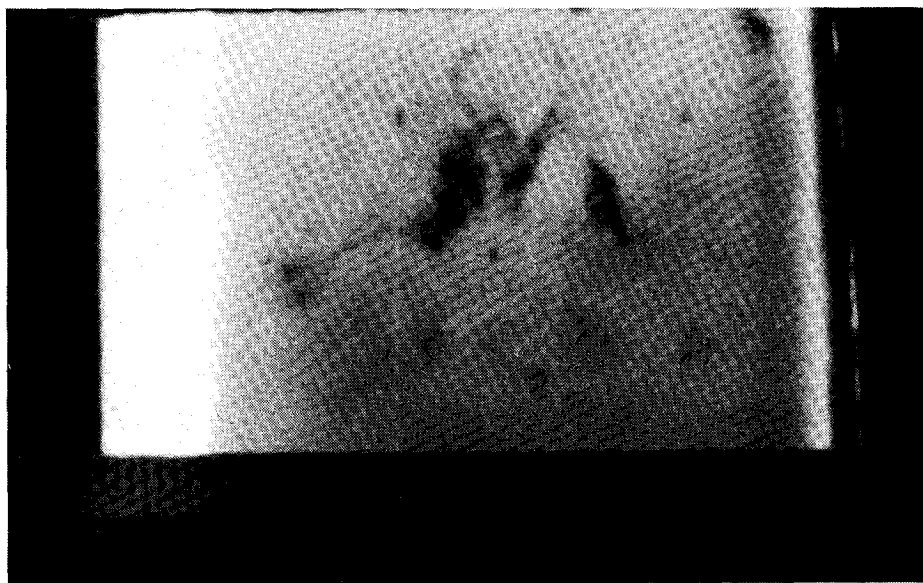


Photo 4. — $t = 30$ min,

$U = 28$ V,

$I = 6$ mA.

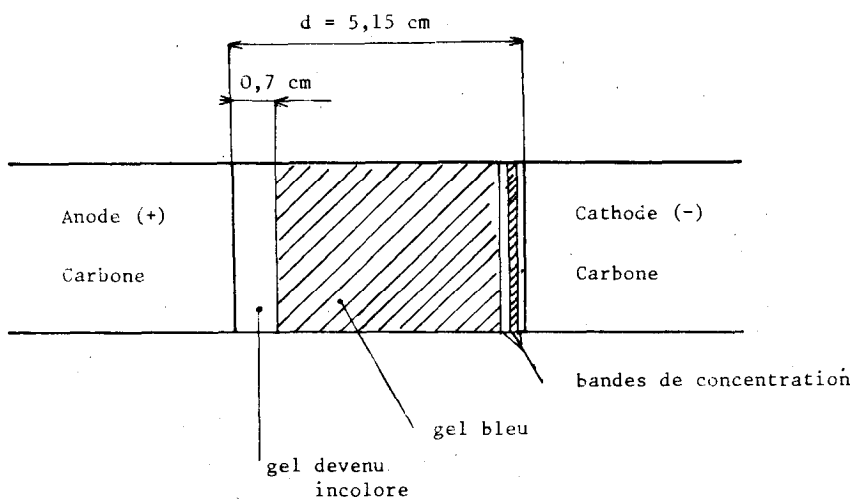


Fig. 4

Si U est la différence de potentiel appliquée entre l'électrode cylindrique centrale de diamètre $D_1 = 0,83$ cm et l'électrode cylindrique externe de diamètre $D_2 = 4,67$ cm, le champ électrique $\vec{E}$ en un point du gel repéré par le rayon vecteur r a la

$$\text{norme } E = \frac{1}{r} \frac{U}{\ln \frac{D_2}{D_1}}.$$

Aux deux intervalles de déplacement et de durée visualisés par les photos et figures successives 5, 6, 7 correspondent respectivement les valeurs suivantes de la norme du champ électrique $\vec{E}$,

de la vitesse moyenne de déplacement v et de la mobilité $u = \frac{v}{E}$,

$$E = 11,5 \text{ V cm}^{-1}; \quad v = 12 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1} \text{ s}; \quad u = 1,04 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$$

$$E = 9,55 \text{ V cm}^{-1}; \quad v = 11 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^{-1} \text{ s}; \quad u = 1,15 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}.$$

Les deux configurations de champ fournissent ainsi sensiblement les mêmes résultats.

Nous avons déterminé (à 17°C) la mobilité du même ion $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$ par conductimétrie dans des solutions de chlorure. La valeur trouvée, extrapolée à concentration nulle est de l'ordre de $1,3 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1} \text{ V}^{-1}$.

La comparaison des différents résultats montre que la mobilité de l'ion ne semble pas être diminuée de façon significative par la présence du gel.

Dans un champ électrique, il est admis qu'un gel dont la concentration en polyamide est inférieure à 6 % freine de façon appréciable seulement les ions dont la masse molaire est de l'ordre de $200\,000 \text{ g mol}^{-1}$ ou plus [1].

MODIFICATIONS DES CONCENTRATIONS AU COURS DE L'ELECTROPHORESE.

Les photos 3 et 4 illustrent également l'état des concentrations en ion coloré dans la région cathodique. On reconnaît la formation, près de la cathode, de « bandes de concentration » successives dont la concentration en ion coloré est alternativement faible, puis élevée. Après une durée suffisante d'électrophorèse, on observe en plus une modification dans l'épaisseur du gel avec un gonflement de la partie située près de la cathode et où s'accumulent les ions colorés $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$, probablement hydratés.



Photo 5. — $t = 3 \text{ min}$,

$U = 20 \text{ V}$,

$I = 9,3 \text{ mA}$.

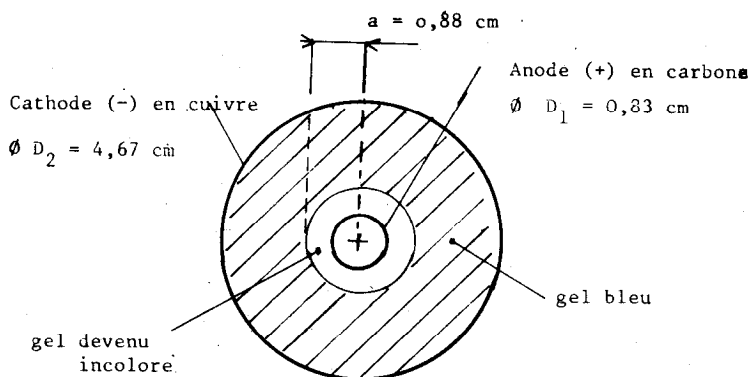
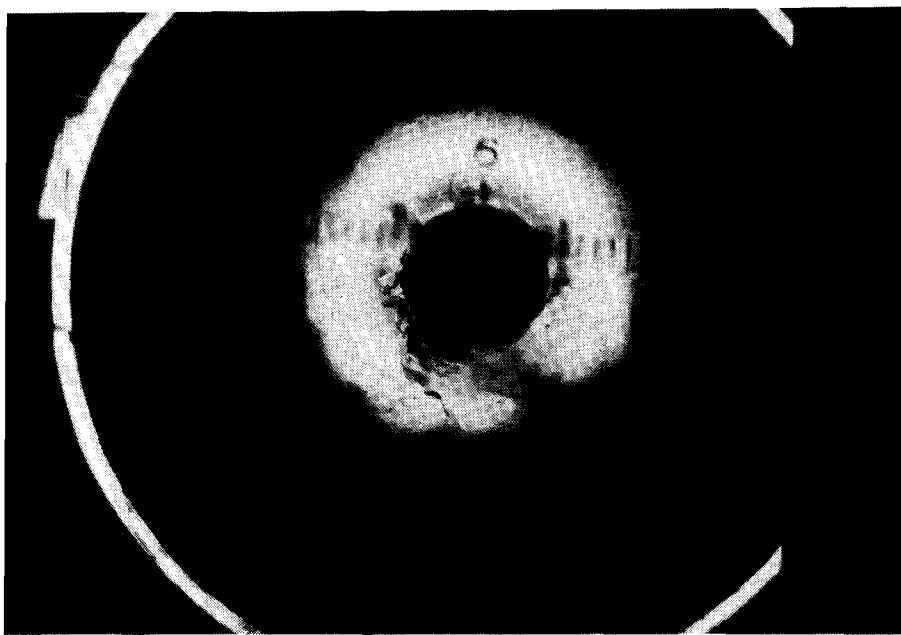


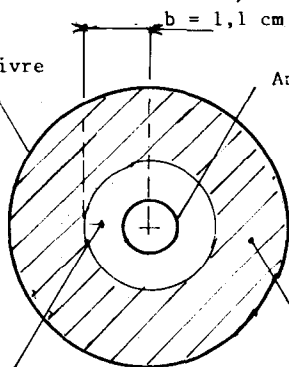
Fig. 5

Photo 6. — $t = 6 \text{ min}$, $U = 20 \text{ V}$, $I = 8,9 \text{ mA}$. $b = 1,1 \text{ cm}$

Cathode (-) en cuivre

 $\varnothing D_2 = 4,67 \text{ cm}$

Anode (+) en carbone

 $\varnothing D_1 = 0,83 \text{ cm}$ 

gel bleu

gel devenu
incolore

Fig. 6. — $\Delta t = 180 \text{ s}$; $v = \frac{b-a}{\Delta t} = 12 \times 10^{-4} \text{ cm.s}^{-1}$; $r = 1,0 \text{ cm}$;
 $E = 11,5 \text{ v cm}^{-1}$.

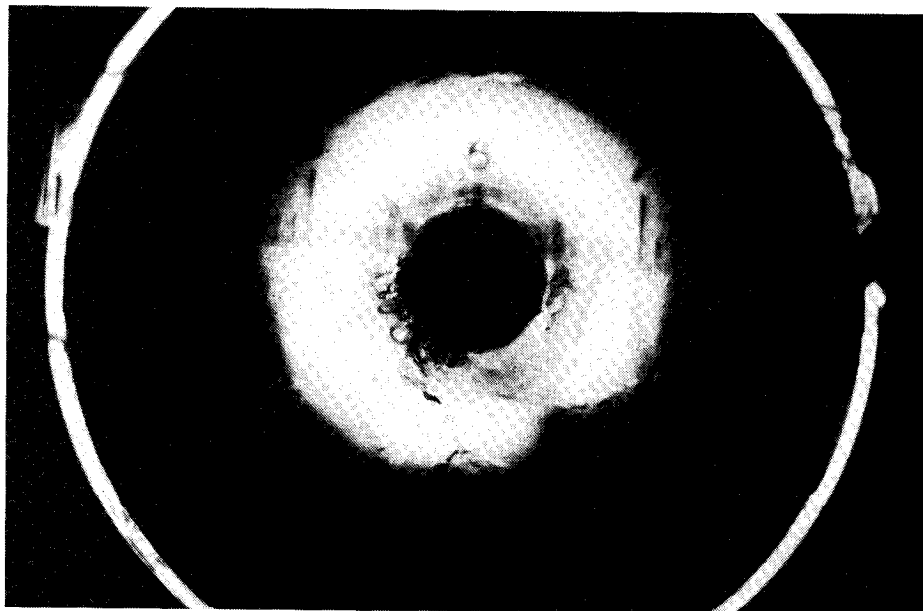
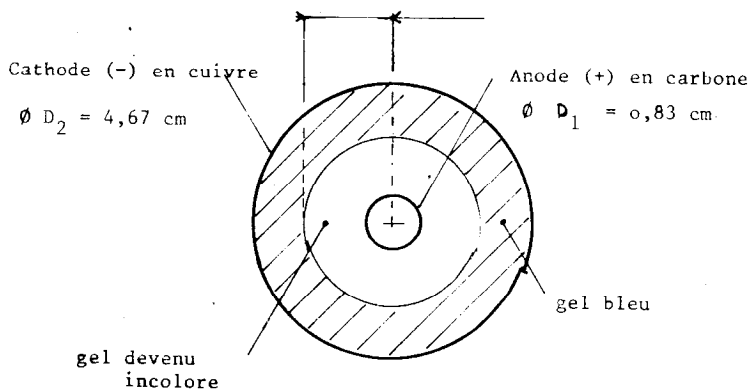
Photo 7. — $t = 9$ min, $U = 20$ V, $I = 7,7$ mA. $c = 1,3$ cm

Fig. 7. — $\Delta t = 180$ s ; $v = \frac{c-b}{\Delta t} = 11 \times 10^{-4}$ cm. s⁻¹ ; $r = 1,2$ cm ;
 $E = 9,55$ v cm⁻¹.

VISUALISATION D'EQUIPOTENTIELLES.

De la relation $\vec{v} = u\vec{E}$ entre le vecteur champ électrique $\vec{E}$, le vecteur vitesse $\vec{v}$ et la mobilité u de l'ion coloré, on déduit que le déplacement de l'ion s'effectue suivant une ligne de champ.

Si le champ est tel que sa norme $\|\vec{E}\|$ le long d'une ligne équipotentielle est constante, il en sera de même de la norme $\|\vec{v}\|$, ainsi que de la distance $\Delta l = \frac{\Delta U}{\|\vec{E}\|}$ suivant la normale

entre deux lignes équipotentielles successives correspondant à une variation ΔU donnée du potentiel. Cette distance Δl sera parcourue par les ions colorés pendant le même temps Δt .

Pour de pareilles configurations de champ (photos 1 à 7), la frontière entre la partie colorée et la partie décolorée du gel dessine une équipotentielle.

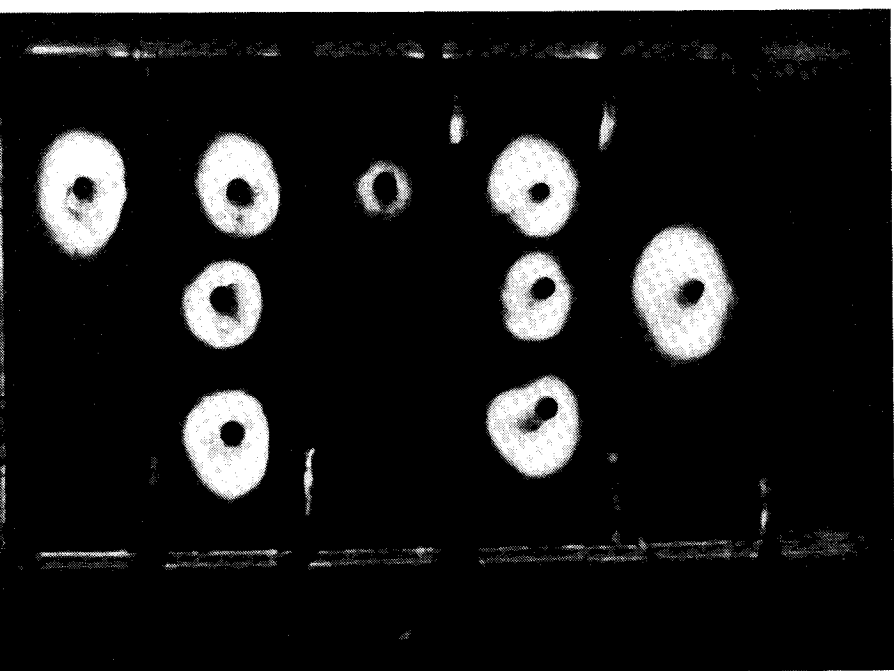


Photo 8.

CONCLUSION.

Ces expériences d'électrophorèse sur gel de polyacrylamide peuvent constituer une illustration de l'étude de l'électrochimie ainsi que de celle du champ électrique dans un milieu conducteur. Avec un ensemble d'électrodes judicieusement placées, la mise en évidence de la migration des ions colorés peut même prendre l'aspect d'un affichage électrolytique (photo 8). Tous ces dispositifs expérimentaux sont particulièrement simples. Ils sont également réutilisables presque indéfiniment. Après une expérience, le milieu électrolytique retrouve lentement, par diffusion, une concentration homogène. Pour ne pas dessécher le gel, les dispositifs doivent être conservés dans des récipients fermés saturés en vapeur d'eau.

Ce milieu particulier que constitue un gel polymer et son liquide interstitiel peut certainement donner lieu à beaucoup d'autres applications.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Rolf BLAICH. — *Analytische Electrophoreseverfahren* ; Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1978.

ANNEXE

Détermination par conductimétrie de la mobilité en solution aqueuse de l'ion $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+}$.

I. APPAREIL ET CONSTANCE DE CELLULE.

Les mesures de conductimétrie ont été faites en utilisant un conductimètre « Tacussel » type CD6N. Les mesures se font en courant alternatif 50 Hz. La cellule de mesure plongée dans la solution est constituée de deux plaquettes de platine de surface s écartées de la longueur l .

$$\text{Constante de cellule : } \frac{s}{l} = \frac{1/R}{1/q}$$

$1/R$ conductance mesurée de la solution KCl.

$1/q$ conductivité de la solution KCl donnée par les tables.

Pour une solution KCl 0,1 M à 17 °C,

$$\frac{1}{R} = 9,2 \cdot 10^{-3} \Omega^{-1},$$

$$\frac{1}{q} = 10,95 \cdot 10^{-3} \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}.$$

Constante de cellule :

$$\frac{s}{l} = \frac{9,2 \cdot 10^{-3}}{10,95 \cdot 10^{-3}} = 0,84 \text{ cm.}$$

II. REALISATION DE SOLUTIONS $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2 \text{Cl}_2$ DE CONCENTRATION CONNUES.

A 100 cm^3 d'une solution 0,1 M de $1/2 \text{ CuCl}_2$, nous avons ajouté 1,14 g de T.M.E.D. La solution ainsi obtenue est supposée entièrement sous la forme $\text{Cu}(\text{T.E.M.E.D.})_2^{2+} 2 \text{ Cl}^-$. Cette solution 0,1 M sert à la réalisation des solutions 0,05 M ; 0,01 M ; 0,005 M.

III. RESULTATS EXPERIMENTAUX A LA TEMPERATURE DE 17 °C.

A) Remarques.

C : concentration molaire en équivalents électrochimiques.

R : résistance mesurée ; $1/R$: conductance mesurée.

Conductivité $1/\varrho = \frac{1/R}{s/l}$ où $\frac{s}{l} = 0,84$ cm est la constante de cellule.

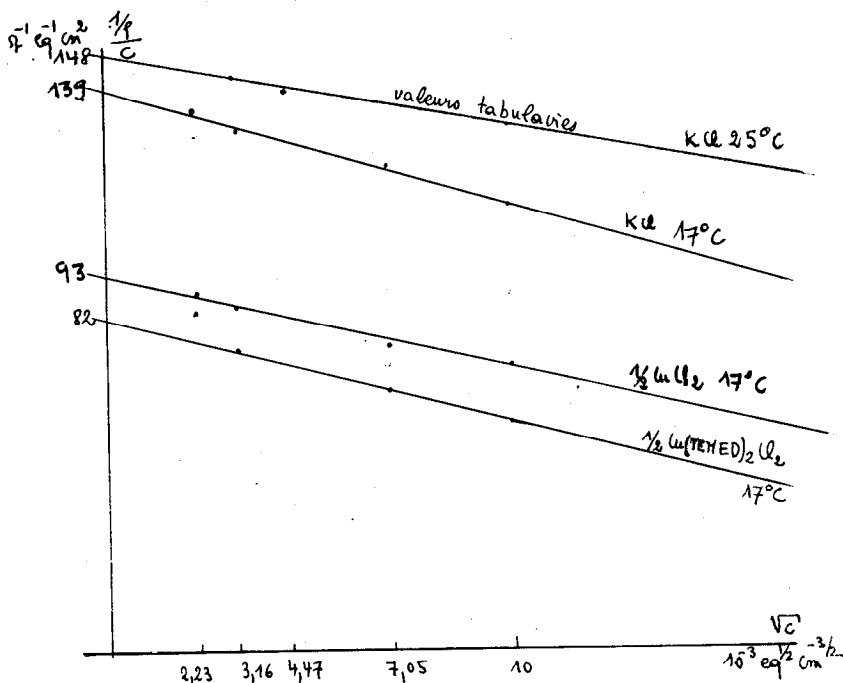
pH : valeur du pH de la solution mesurée au pH-mètre.

L'eau distillée utilisée possède un pH de 5,8.

B) Tableau des mesures.

C eq l ⁻¹ eq cm ⁻³	0,1 1 · 10 ⁻⁴	0,05 5 · 10 ⁻⁵	0,01 1 · 10 ⁻⁵	0,005 5 · 10 ⁻⁶	tempé- rature	solution de
$\sqrt{c}$ eq ^{1/2} cm ^{-3/2}	10 · 10 ⁻³	7,05 · 10 ⁻³	3,16 · 10 ⁻³	2,23 · 10 ⁻³		
$\frac{1}{R}$ Ω ⁻¹	9,2 · 10 ⁻³	5 · 10 ⁻³	1,08 · 10 ⁻³	0,56 · 10 ⁻³		
$\frac{1}{\varrho} = \frac{1/R}{s/l}$ Ω ⁻¹ cm ⁻¹	10,95 · 10 ⁻³	5,95 · 10 ⁻³	1,286 · 10 ⁻³	0,667 · 10 ⁻³	17 ° C	KCl
$\frac{1/\varrho}{c}$ Ω ⁻¹ eq ⁻¹ cm ²	109,5	119,0	128,6	133,4		
pH mesuré	5,8	5,9	5,9	6,2		
$\frac{1}{R}$ Ω ⁻¹	5,85 · 10 ⁻³	3,15 · 10 ⁻³	0,71 · 10 ⁻³	0,37 · 10 ⁻³		
$\frac{1}{\varrho} = \frac{1/R}{s/l}$ Ω ⁻¹ cm ⁻¹	6,96 · 10 ⁻³	3,75 · 10 ⁻³	0,845	0,44	17 ° C	1/2 Cu Cl ₂
$\frac{1/\varrho}{c}$ Ω ⁻¹ eq ⁻¹ cm ²	69,6	75,0	84,5	88,1		
pH mesuré	4,2	4,5	5,1	5,3		
$\frac{1}{R}$ Ω ⁻¹	4,7 · 10 ⁻³	2,7 · 10 ⁻³	0,62 · 10 ⁻³	0,35 · 10 ⁻³		
$\frac{1}{\varrho} = \frac{1/R}{s/l}$ Ω ⁻¹ cm ⁻¹	5,575 · 10 ⁻³	3,21 · 10 ⁻³	0,738 · 10 ⁻³	41,7 · 10 ⁻³	17 ° C	1/2 Cu (T.M.E.D.) ₂ Cl ₂
$\frac{1/\varrho}{c}$ Ω ⁻¹ eq ⁻¹ cm ²	55,95	64,3	73,8	83,4		
pH mesuré	8,8	9	8,9	8,9		

c	0,1 M	0,02 M	0,01 M			
$\frac{1}{\rho} \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$	$12,88 \cdot 10^{-3}$	$2,76 \cdot 10^{-3}$	$1,41 \cdot 10^{-3}$		25 °C	KCl
valeurs tabulaires						
$\frac{1}{\rho} \Omega^{-1} \text{ eq}^{-1} \text{ cm}^2$	128,8	138	141			
valeurs tabulaires						



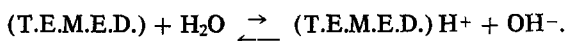
1) Le graphe montre que pour les différentes solutions salines, $\frac{1}{\rho}$ est une fonction affine de $\sqrt{c}$.

2) Les différentes solutions salines peuvent être considérées comme des électrolytes forts.

3) Les conductivités équivalentes $\frac{1/q}{c}$ limites, à dilution infinie c'est-à-dire pour $c \rightarrow 0$ (voir graphe précédent) sont :

Solution	KCl	KCl	1/2 Cu Cl ₂	1/2 Cu (T.E.M.E.D.) ₂ Cl ₂
Température	25 °C	17 °C	17 °C	17 °C
$\left[\frac{1/q}{c} \right]_{lim}$ $\Omega^{-1} \text{eq}^{-1} \text{cm}^2$	148	139	93	82

4) En particulier, la solution de Cu (T.E.M.E.D.)₂ Cl₂ apparaît comme un électrolyte fort sauf aux faibles concentrations où la conductivité équivalente anormalement trop grande peut être due à un phénomène d'hydrolyse de T.E.M.E.D. excédentaire, suivant la réaction :



Le pH basique de la solution pourrait être dû également à ce phénomène d'hydrolyse.

IV. DIFFERENTES EXPRESSIONS DE LA CONDUCTIVITE DE L'ELECTROLYTE.

A) En fonction de la densité de courant et du champ électrique.

$$R = \rho \frac{l}{s} = \frac{u}{I} \Rightarrow \frac{1}{\rho} = \frac{I/s}{u/l} = \frac{j}{E} \quad \begin{array}{l} j \text{ densité de courant,} \\ E \text{ champ électrique.} \end{array}$$

B) Expression de la densité de courant par exemple dans le cas d'une solution KCl.

ions présents	K ⁺	Cl ⁻	H ₃ O ⁺	OH ⁻
concentrations en eq cm ⁻³	c_1	c_2	c_3	c_4
vitesses de déplacement en A cm ⁻²	v_1	v_2	v_3	v_4

Densité de courant : en A cm⁻² :

$$j = \mathcal{N}e \{ c_1 v_1 + c_2 v_2 + c_3 v_3 + c_4 v_4 \} \text{ où } \mathcal{N}e = 96\,500 \text{ As eq}^{-1},$$

par exemple :

$$\begin{aligned} c_1 &= 5 \cdot 10^{-3} \text{ eq l}^{-1} \\ c_2 &= 5 \cdot 10^{-3} \text{ eq l}^{-1} \\ c_3 &= 10^{-6,2} \text{ eq l}^{-1} \\ c_4 &= 10^{-7,8} \text{ eq l}^{-1}. \end{aligned}$$

Les termes $c_3 v_3$ et $c_4 v_4$ qui correspondent aux ions H₃O⁺ et OH⁻ sont négligeables.

$$\text{D'où } j \simeq \mathcal{N}e (c_1 v_1 + c_2 v_2) = \mathcal{N}e \cdot c (v_1 + v_2).$$

C) Expression de la conductivité équivalente.

$$\frac{1/q}{c} = \frac{j/E}{c} \simeq \mathcal{Q}e \frac{(v_1 + v_2)}{E}.$$

D) Conductivité équivalente à dilution infinie, c'est-à-dire lorsque $c \rightarrow 0$.

Par définition, à dilution infinie,

$$v_1 = \mu_1 E \quad \mu_1 \text{ mobilité de l'ion 1}$$

$$v_2 = \mu_2 E \quad \mu_2 \text{ mobilité de l'ion 2}$$

$$\mathcal{Q}e(\mu_1 + \mu_2) = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{1/q}{c} \right)$$

$$\Sigma \mu \simeq \mu_1 + \mu_2 = \frac{1}{\mathcal{Q}e} \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{1/q}{c} \right) \quad \text{où} \quad \mathcal{Q}e = 96\,500 \text{ As}^{-1} \text{ eq}^{-1}$$

V. MOBILITE DES IONS.

A) Remarque.

Les ions Cl^- et K^+ ayant sensiblement même mobilité :

$$\begin{aligned} \mu_{\text{Cl}^-} &\simeq \mu_{\text{K}^+} \simeq \frac{1}{2} (\mu_{\text{Cl}^-} + \mu_{\text{K}^+}) \\ &\simeq \frac{1}{2} \frac{1}{\mathcal{Q}e} \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{1/q}{c} \right) \end{aligned}$$

ce qui permet de connaître la mobilité de l'ion Cl^- à 17°C (non fournie par les tables).

B) Résultats.

Solutions de :	KCl 95 °C	KCl 17 °C	1/2 CuCl ₂ 17 °C	1/2 Cu (T.M.E.D.) ₂ Cl ₂ 17 °C
$\lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{1/q}{c} \right) \Omega^{-1} \text{eq}^{-1} \text{cm}^2$	148	139	93	82
$\Sigma \mu = \frac{1}{\mathcal{Q}e} \lim_{V^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ cm}^2} \left(\frac{1/q}{c} \right)$	15,3 · 10 ⁻⁴	14,4 · 10 ⁻⁴	9,64 · 10 ⁻⁴	8,5 · 10 ⁻⁴
Ions présents	Cl ⁻ K ⁺	Cl ⁻ K ⁺	Cl ⁻ Cu ²⁺	Cl ⁻ Cu (T.M.E.D.) ₂ ²⁺
Mobilité μ_{Cl^-} V ⁻¹ s ⁻¹ cm ²	7,7 · 10 ⁻⁴	7,2 · 10 ⁻⁴	7,2 · 10 ⁻⁴	7,2 · 10 ⁻⁴
Mobilité de l'autre ion	7,7 · 10 ⁻⁴	7,2 · 10 ⁻⁴	2,44 · 10 ⁻⁴	1,3 · 10 ⁻⁴