

## Elektromigrační separační metody

- 1) Kapilární zónová elektroforéza (CZE)
- 2) Kapilární gelová elektroforéza (CGE)
- 3) Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MECC)
- 4) Elektrochromatografie v naplněných kapilárách (EC, CEC)
- 5) Kapilární izoelektrické fokusování (CIEF, IEF)
- 6) Kapilární izotachofóza (CITP, ITP)

Separací metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

## Křemenná kapilára

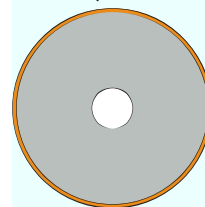
Kapilára z **křemenného skla** (fused silica)

s vnější vrstvou **polyimidu**

vnitřní průměr : 50 , 75 nebo 100  $\mu\text{m}$

vnější průměr : 375  $\mu\text{m}$

75  $\mu\text{m}$  i.d.  
375  $\mu\text{m}$  o.d.



Využití dvou **transportních jevů** :

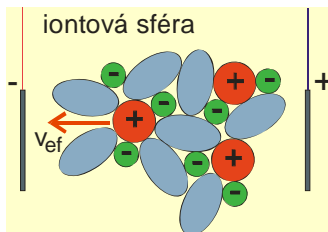
1. elektroforetická migrace iontů
2. elektroosmotický tok kapaliny

Separací metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

## Elektroforetická migrace



$$v_{ef,i} = m_{ef,i} \cdot E = m_{ef,i} \cdot \frac{U}{L}$$

$$F_{el,i} = Q_i \cdot E$$

$$F_{tr,i} = -6\pi \cdot \eta \cdot r_i \cdot v_i$$

$$F_{el,i} = M_i \cdot a_i$$

$$F_{el,i} = -F_{tr,i}$$

elektroforetická rychlost:  $v_{ef,i}$  [m/s]

elektroforetická pohyblivost:  $m_{ef,i}$  [ $\text{m}^2/\text{Vs}$ ]

$$m_{ef,i} = \frac{Q_i}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i}$$

Separací metody

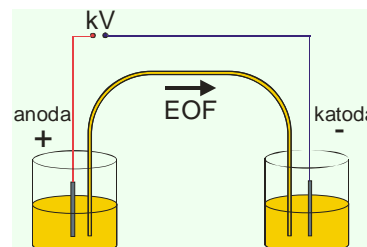
24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

## Elektroosmotický tok, elektroosmóza

von Smoluchovského rovnice

$$v_{eof} = m_{eof} \cdot E = \frac{\epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta}{\eta} \cdot E$$



$L = 0,5 \text{ m}$

$U = 30\,000 \text{ V}$

$m_{eof} = 5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$

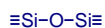
$v_{eof} = 3 \text{ mm/s}$

Separací metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

## Struktura silikagelu



siloxanová skupina



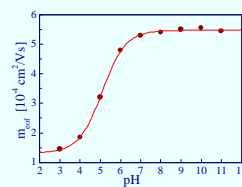
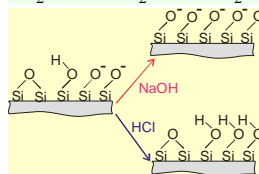
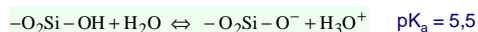
silanolová skupina

Separací metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

## Povrchový náboj



Separací metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

### Elektrická dvojvrstva

$-O-SiO_2H + H_2O \rightleftharpoons -O-SiO_2^- + H_3O^+$

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza

### Zeta potenciál (ζ)

$$m_{eof} = \frac{\epsilon_r \cdot \epsilon_0 \cdot \zeta}{\eta}$$

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza

### Rychlostní profil

tlakem hnaná kapalina

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza

### Teplotní profil

Joulovo teplo:  $Q = P = U \cdot J$

chlazení kapiláry:  
a) vzduchem  
b) kapalinou

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza

### CZE - přístroj

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza

### CZE - separační mechanismus

rychlost zóny:  $v_{poz,i} = v_{eof} + v_{ef,i}$      $v_{eof} > 0, v_{ef,+} > 0, v_{ef,-} < 0$

Separační metody      24.1.1996 © Pavel Coufal      Kapilární elektroforéza