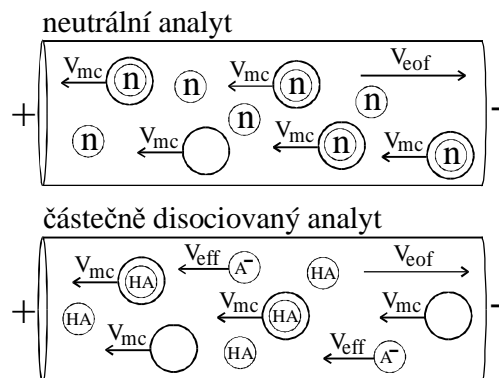
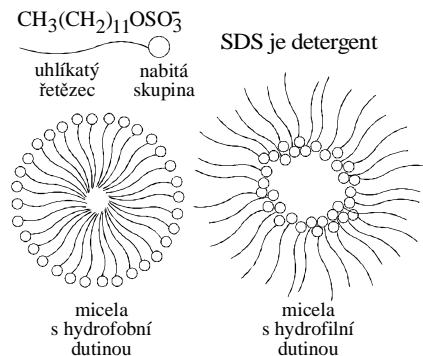


Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography, MECC

MICELÁRNÍ ELEKTROKINETICKÁ KAPILÁRNÍ CHROMATOGRAFIE (MECC, MEKC)

Separční pufr obsahuje povrchově aktivní látku (detergent), která vytváří ve vodném pufru micely, které dobře rozpouštějí lipofilní látky. Micely jsou pseudostacionární fází s hydrofobními dutinami, které dobře rozpouštějí lipofilní látky. Micely nesou na svém povrchu elektrický náboj a vykazují vlastní elektroforetickou migraci v elektrickém poli. Analyty s rozdílnou hydrofobitou podléhají rozdílné distribuci mezi vodnou a micelární fází. Více lipofilní analyty jsou pohybující se pseudostacionární fází více rozpouštěny a rychleji unášeny. Rozdíly v rychlostech micelami rozpouštěných a unášených analytů vedou k jejich vzájemné separaci. Metoda je vhodná pro neutrální i nabitě analyty a nelze ji kombinovat s MS detekcí.

MECC – separační mechanismus

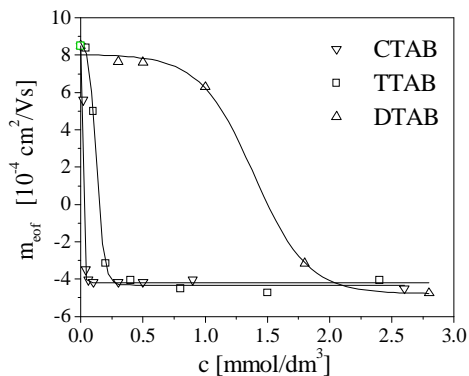
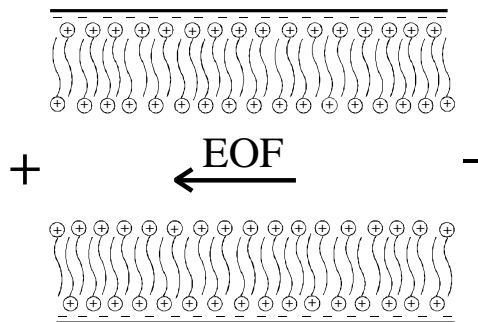


DETERGENTY

	CMC	n	MW
aniontové			
dodecylsírán sodný, SDS	8,3	62	18000
dodecylsulfonát sodný	9,8	54	15000
kyselina cholová	14,0	3	14000
kyselina deoxycholová	5,0	4	17000
kationtové			
dodecyltrimetylamoniumbromid, DTAB	14,6	61	19300
tetradecyltrimetylamoniumbromid, TTAB	4,4	64	19000
hexadecyltrimetylamoniumbromid, CTAB	0,9	78	28000
neiontové			
polyoxyethylen-23-laurylether, Brij 35	0,1	40	48000
Triton X-100	0,2	140	90000

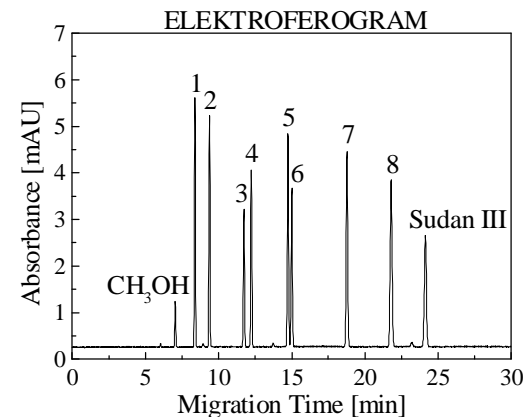
CMC [mmol/dm³] = kritická micelární koncentrace
 n = agregační číslo
 MW [g/mol] = micelární hmotnost

OBRÁCENÍ EOF POMOCÍ DETERGENTU



RETENČNÍ FAKTOR v MECC

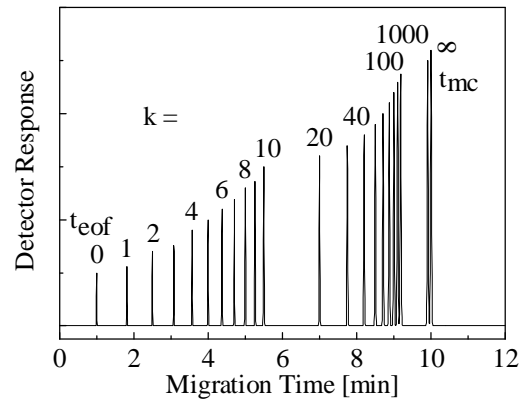
10 mM TRIS / H₃BO₃ (pH= 8,5), 50 mM SDS



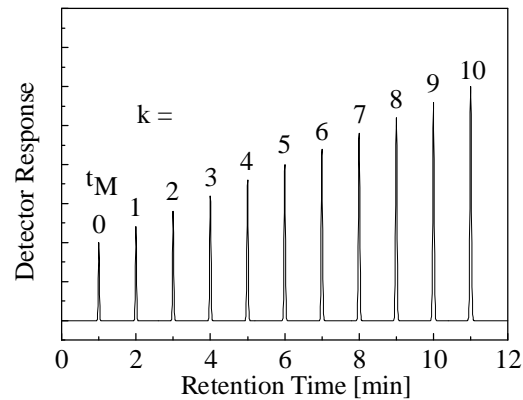
	t _{mig} [min]	k
methanol	7,0	0
1 1,3-dihydroxybenzen	8,3	0,27
2 fenol	9,4	0,55
3 p-nitroanilin	11,6	1,28
4 4-methylfenol	12,3	1,54
5 2,6-dimethylfenol	14,8	2,89
6 toluen	15,0	3,06
7 1,2-dimethylbenzen	18,8	7,70
8 propylbenzen	21,8	23,17
Sudan III	24,0	∞

ELUČNÍ OKNO v MECC a HPLC

MECC



HPLC



DISTRIBUCE NEUTRÁLNÍCH LÁTEK v MECC

micelární fáze = pseudostacionární fáze = mc

vodná fáze = aq

$$\text{distribuční konstanta : } K_{D,i} = \frac{(c_i)_{mc}}{(c_i)_{aq}}$$

retenční faktor :

$$k_i = \frac{(n_i)_{mc}}{(n_i)_{aq}} = K_{D,i} \cdot \frac{V_{mc}}{V_{aq}} = K_{D,i} \cdot \frac{\bar{V}_{mc} \cdot (c_s - CMC)}{1 - \bar{V}_{mc} \cdot (c_s - CMC)}$$

\bar{V}_{mc} parciální molární objem micel

pro malé koncentrace detergentu :

$$k_i \cong K_{D,i} \cdot \bar{V}_{mc} \cdot (c_s - CMC)$$

$$\bar{V}_{SDS, 23^\circ C} = 0,25 \text{ dm}^3 / \text{mol}$$

$$CMC_{SDS} = 8,3 \text{ mmol} / \text{dm}^3$$

POZOROVANÁ RYCHLOST NEUTRÁLNÍCH LÁTEK v MECC

$$v_{eof} = m_{eof} \cdot E \quad v_{mc} = m_{mc} \cdot E$$

m_{mc} efektivní mobilita micel

$$v_{poz,mc} = v_{eof} + v_{mc} = (m_{mc} + m_{eof}) \cdot E$$

$$v_{poz,i} = \frac{(n_i)_{aq}}{(n_i)_{aq} + (n_i)_{mc}} \cdot v_{eof} + \frac{(n_i)_{mc}}{(n_i)_{aq} + (n_i)_{mc}} \cdot v_{poz,mc}$$

$$\frac{(n_i)_{aq}}{(n_i)_{aq} + (n_i)_{mc}} = \frac{1}{1 + k_i}$$

$$\frac{(n_i)_{mc}}{(n_i)_{aq} + (n_i)_{mc}} = \frac{k_i}{1 + k_i}$$

$$v_{poz,i} = \frac{1}{1 + k_i} \cdot m_{eof} \cdot E + \frac{k_i}{1 + k_i} \cdot (m_{mc} + m_{eof}) \cdot E$$

$$v_{poz,i} = (m_{eof} + \frac{k_i}{1 + k_i} \cdot m_{mc}) \cdot E$$

z elektroferogramu : t_{eof} , $t_{mig,i}$, t_{mc}

$$k_i = \frac{t_{mig,i} - t_{eof}}{t_{eof} \cdot \left(1 - \frac{t_{mig,i}}{t_{mc}}\right)}$$

PSEUDOEFEKTIVNÍ MOBILITA NEUTRÁLNÍCH LÁTEK v MECC

$$v_{\text{poz},i} = \frac{I_d}{t_{\text{mig},i}} = m_{\text{poz},i}^{\text{ps}} \cdot E = (m_{\text{eff},i}^{\text{ps}} + m_{\text{eof}}) \cdot E$$

$m_{\text{eff},i}^{\text{ps}}$ pseudo-efektivní mobilita

z elektroferogramu : $t_{\text{mig},i}$, t_{eof}
(nepotřebujeme znát t_{mc})

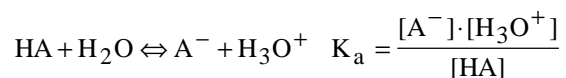
$$m_{\text{eff},i}^{\text{ps}} = \frac{I_d \cdot I_c}{U} \cdot \left(\frac{1}{t_{\text{mig},i}} - \frac{1}{t_{\text{eof}}} \right)$$

$$m_{\text{eff},i}^{\text{ps}} = \frac{k_i}{1+k_i} \cdot m_{\text{mc}}$$

$$k_i = \frac{m_{\text{eff},i}^{\text{ps}}}{m_{\text{mc}} - m_{\text{eff},i}^{\text{ps}}}$$

$$0 \leq k_i \leq \infty \quad 0 \leq \left| m_{\text{eff},i}^{\text{ps}} \right| \leq \left| m_{\text{mc}} \right|$$

DISTRIBUCE NABITÝCH LÁTEK v MECC



$$K_{D,\text{HA}} = \frac{(c_{\text{HA}})_{\text{mc}}}{(c_{\text{HA}})_{\text{aq}}} \quad K_{D,\text{A}^-} = \frac{(c_{\text{A}^-})_{\text{mc}}}{(c_{\text{A}^-})_{\text{aq}}}$$

$$k_i = k_{\text{HA},\text{A}^-} = \frac{(n_i)_{\text{mc}}}{(n_i)_{\text{aq}}}$$

$$k_i = \frac{[\text{HA}]_{\text{aq}}}{[\text{HA}]_{\text{aq}} + [\text{A}^-]_{\text{aq}}} \cdot k_{\text{HA}} + \frac{[\text{A}^-]_{\text{aq}}}{[\text{HA}]_{\text{aq}} + [\text{A}^-]_{\text{aq}}} \cdot k_{\text{A}^-}$$

$$k_i = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{aq}} \cdot k_{\text{HA}} + K_a \cdot k_{\text{A}^-}}{[\text{H}_3\text{O}^+]_{\text{aq}} + K_a} = \frac{10^{-\text{pH}} \cdot k_{\text{HA}} + 10^{-\text{p}K_a} \cdot k_{\text{A}^-}}{10^{-\text{pH}} + 10^{-\text{p}K_a}}$$

$$k_i = \frac{k_{\text{HA}} + k_{\text{A}^-} \cdot 10^{(\text{pH}-\text{p}K_a)}}{1 + 10^{(\text{pH}-\text{p}K_a)}} = \frac{k_{\text{A}^-} + k_{\text{HA}} \cdot 10^{(\text{p}K_a-\text{pH})}}{1 + 10^{(\text{p}K_a-\text{pH})}}$$

z elektroferogramu : **nelze použít následující rovnici**

$$k_i = \frac{t_{\text{mig},i} - t_{\text{eof}}}{t_{\text{eof}} \cdot \left(1 - \frac{t_{\text{mig},i}}{t_{\text{mc}}} \right)}$$

CELKOVÁ MOBILITA NABITÝCH LÁTEK v MECC

$$v_{\text{poz},i} = \frac{I_d}{t_{\text{mig},i}} = (m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} + m_{\text{eof}}) \cdot E$$

$m_{\text{eff},i}^{\text{ov}}$ celková (overall) efektivní mobilita

z elektroferogramu : $t_{\text{mig},i}$, t_{eof}
(nepotřebujeme znát t_{mc})

$$m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} = \frac{I_d \cdot I_c}{U} \cdot \left(\frac{1}{t_{\text{mig},i}} - \frac{1}{t_{\text{eof}}} \right)$$

$$m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} = \frac{1}{1+k_i} \cdot (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}} + \frac{k_i}{1+k_i} \cdot m_{\text{mc}}$$

$$k_i = \frac{m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} - (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}}}{m_{\text{mc}} - m_{\text{eff},i}^{\text{ov}}}$$

$$0 \leq k_i \leq \infty$$

$$\left| (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}} \right| \leq \left| m_{\text{mc}} \right| \quad \text{pak} \quad \left| (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}} \right| \leq \left| m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} \right| \leq \left| m_{\text{mc}} \right|$$

$$\left| (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}} \right| \geq \left| m_{\text{mc}} \right| \quad \text{pak} \quad \left| (m_{\text{eff},i})_{\text{aq}} \right| \geq \left| m_{\text{eff},i}^{\text{ov}} \right| \geq \left| m_{\text{mc}} \right|$$

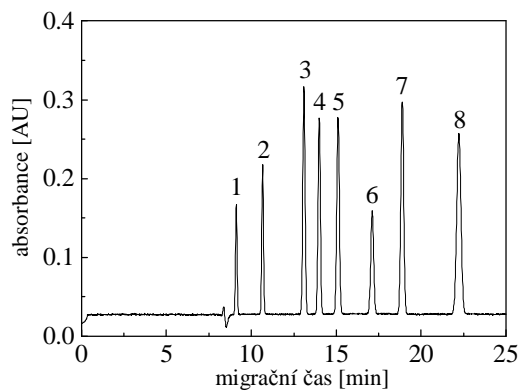
MECC : VITAMÍNY

J.Chromatogr., 447(1988)133-140

100 μm I.D., 50 cm, 80 cm
20 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{Na}_3\text{PO}_4$ (pH = 9,0), 50 mM SDS
15 kV (100 μA), UV detekce při 254 nm

píky :

1 nikotinamid (B_3), 2 pyridoxin (B_6), 3 kyanokobalamin (B_{12}),
4 kyselina askorbová (C), 5 riboflavin (B_2), 6 kyselina
nikotinová, 7 ethyl-p-aminobenzoát (vnitřní standard), 8
thiamin (B_1)

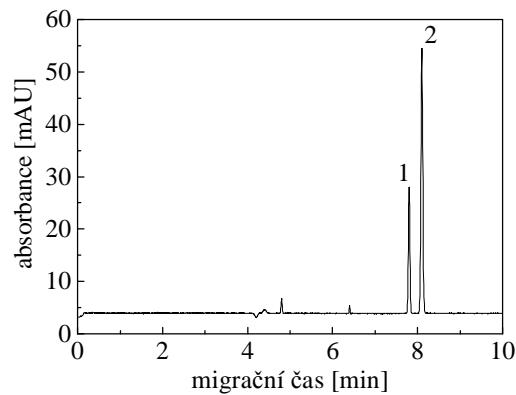


MECC : TONIC

75 μm I.D., 61 cm, 72 cm
25 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ (pH = 9,2), 25 mM SDS
20 mbar / 0,10 min (≈ 13 nl)
20 kV (76 μA)
UV detekce při 254 nm

píky :

1 kyselina askorbová (68 mg/l; 0,9 ng ve 13 nl)
2 kyselina sorbová (174 mg/l; 2,3 ng ve 13 nl)



MECC : karboxylové kyseliny

J. Chromatogr., 608 (1992) 403-411

50 μm I.D., 44,5 cm, 65,7 cm
18 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 30 mM NaH_2PO_4 + 50 mM CTAB
Separace : -20 kV
Detekce : UV při 280 nm

