

Počítání pohyblivosti

$t_{mig,i}, t_{eof}$ $l_{vd}, l_c, U, E = U/l_c$
 $m_{eof} = \frac{v_{eof}}{E} = \frac{t_{eof}}{U} = \frac{l_{vd} \cdot l_c}{t_{eof} \cdot U}$

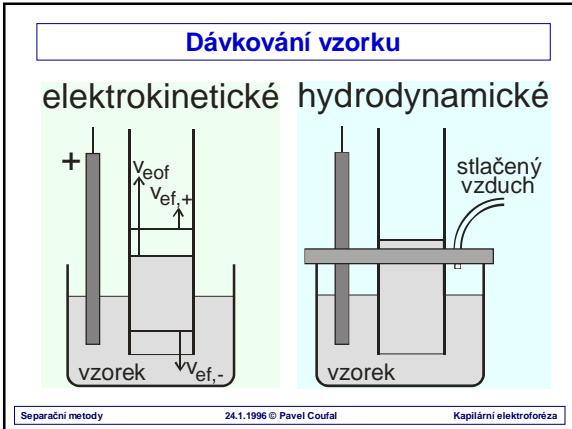
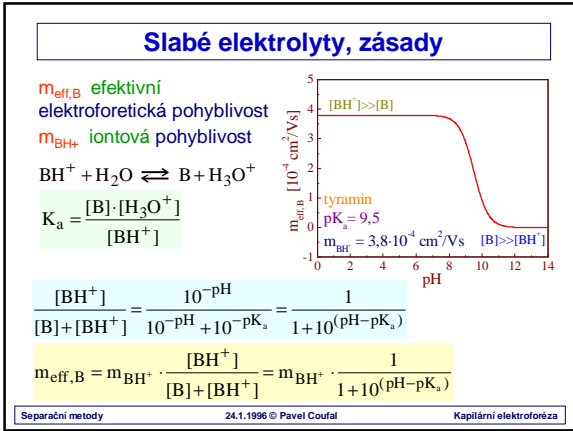
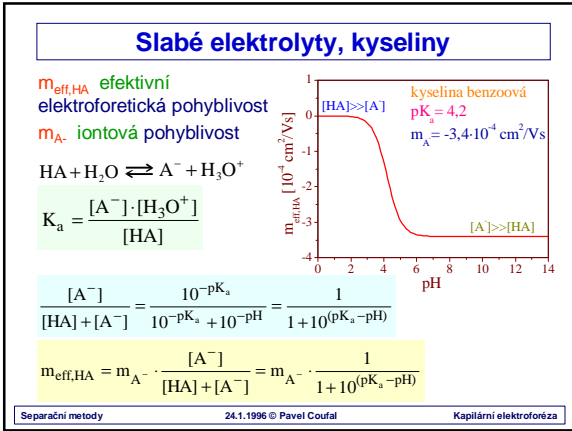
$m_{ef,i} > 0$ pro kationty
 $m_{ef,i} < 0$ pro anionty
 $m_{poz,i} > 0$ pro oboje, pokud $|m_{ef,i}| < |m_{eof}|$

$m_{poz,i} = m_{eof} + m_{ef,i} = \frac{v_{poz,i}}{E} = \frac{t_{mig,i}}{U} = \frac{l_{vd} \cdot l_c}{t_{mig,i} \cdot U}$

$m_{ef,i} = m_{poz,i} - m_{eof}$

$m_{ef,i} = \frac{l_{vd} \cdot l_c}{t_{mig,i} \cdot U} - \frac{l_{vd} \cdot l_c}{t_{eof} \cdot U} = \left(\frac{1}{t_{mig,i}} - \frac{1}{t_{eof}} \right) \cdot \frac{l_{vd} \cdot l_c}{U}$

Separační metody 24.1.1996 © Pavel Coufal Kapilární elektroforéza



- ### Detekce v CZE
1. absorpční fotometrický detektor
UV, VIS
přímá a nepřímá detekce
 2. fluorimetrický detektor
 3. vodivostní detektor
 4. detektor s diodovým polem (DAD)
 5. hmotnostní spektrometr jako detektor
- Separační metody 24.1.1996 © Pavel Coufal Kapilární elektroforéza

Analytická informace z elektroferogramu

RESULTS

Peak	RT(min)	Height	Area	W50%
1	3.422	0.329	0.633	0.029
2	4.203	2.669	8.885	0.054
3	7.115	3.791	9.256	0.039
4	7.942	0.463	1.156	0.042
5	8.072	1.077	2.949	0.044

kvalitativní informace :

poloha píku - migrační čas → elektroforetická pohyblivost
- druh látky (metoda standardů)

kvantitativní informace :

plocha píku → množství, koncentrace látky

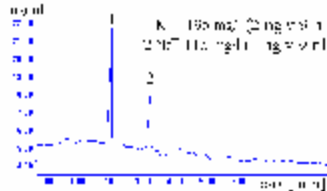
- metoda kalibrační přímky
- metoda standardního přídatku
- metoda vnitřního standardu

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

CZE anorganických kationtů



kapilára: 75 μm i.d., 51 cm, 51 cm

separační pufr: 20 mM kyselina citronová + 10 mM LiOH (pH = 2,8)

separační napětí: 30 kV (13 μA)

dávkování vzorku: 10 mBar / 6 s (\approx 9 nL)

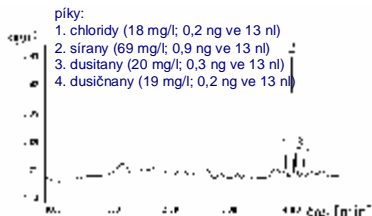
vodivostní detekce

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

CZE anorganických aniontů



píky:

1. chloridy (18 mg/l; 0,2 ng ve 13 nl)
2. sírany (69 mg/l; 0,9 ng ve 13 nl)
3. dusičnany (20 mg/l; 0,3 ng ve 13 nl)
4. dusičnany (19 mg/l; 0,2 ng ve 13 nl)

kapilára: 75 μm i.d., 61 cm, 72 cm

separační pufr: 5 mM K_2CrO_4 + 0,5 mM TTAB (pH = 8,0)

separační napětí: -15 kV (15 μA)

dávkování vzorku: 20 mBar / 6 s (\approx 13 nL)

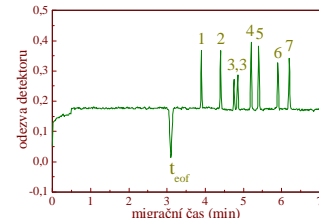
nepřímá fotometrická detekce při 254 nm

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

CZE herbicidů



píky:

1. kyselina
2. 4-(2,4-dichlorfenoxy)máselná
3. 2-(2,4-dichlorfenoxy)propionová
4. 2,4-dichlorfenoxyoctová
5. 4-chlor-2-metylfenoxyoctová
6. 2-(2,4,5-trichlorfenoxy)propionová
7. 2,4,5-trichlorfenoxyoctová

kapilára: 50 μm i.d., 40 cm, 47 cm

separační pufr: 20 mM fosforečnan (pH = 5,6) + 2 mM α -cyclodextrin

separační napětí: 25 kV

dávkování vzorku: 35 mBar / 4 s (\approx 4,5 nL)

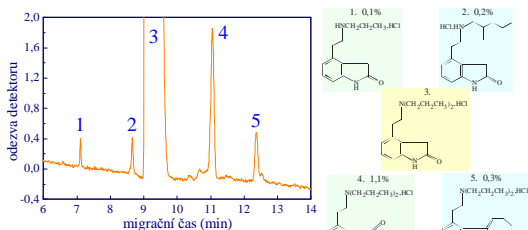
přímá UV fotometrická detekce při 200 nm

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

CZE ropinirolu a jeho nečistot



kapilára: 50 μm i.d., 40 cm, 47 cm

separační pufr: 100 mM $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ + 30 mM MgSO_4 (pH = 8,7) s 20% CH_3CN

separační napětí: 30 kV (33 μA)

dávkování vzorku: 11 nL (2 mg/mL)

přímá UV fotometrická detekce při 254 nm

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Kapilární elektroforéza

Srovnání separačních metod

předúprava vzorku

extrakce: tuhá fáze → kapalina, kapalina → kapalina

solid-phase extrakce, SPE: kapalina → pevná fáze

klasická kolonová chromatografie (gravitace)

superkritická fluidní extrakce, SFE: CO_2

vlastní analýza

plynová chromatografie, GC: pouze těkavé látky (20 – 500 $^\circ\text{C}$); bod varu < 500 $^\circ\text{C}$;

FID (10^{-13} gC/s) velmi citlivá detekce pro organické látky

větší rychlost analýzy v porovnání s LC

kapalinová chromatografie, LC:

kapalné nebo pevné netěkavé látky, jež lze rozpustit; látky iontové i neiontové povahy

LIF (10^{-11} g/ml) detekce v HPLC

PC a TLC rychlá, instrumentálně jednoduchá

kapilární elektroforéza, CZE:

kapalné nebo pevné netěkavé látky, které lze rozpustit; pouze látky s nábojem (ionty)

LIF (10^{-11} g/ml) detekce v CZE

citlivost srovnatelná s HPLC, ale menší množství vzorku

rychlé vyvinutí a optimalizace metody

superkritická fluidní chromatografie, SFC:

CO_2 ve formě superkritické tekutiny jako mobilní fáze

Separční metody

24.1.1996 © Pavel Coufal

Porovnání