

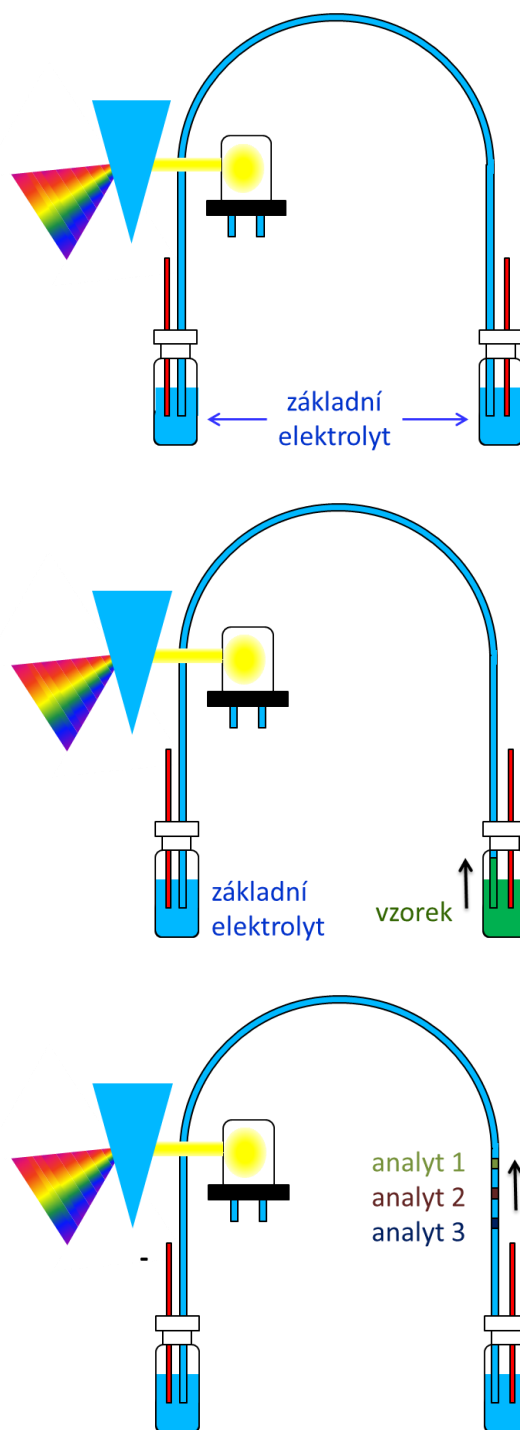
Teorie elektromigrace aneb začněme od Adama

Elektromigrační metody jsou analytické separační metody, které jsou založeny na separaci analytů v elektrickém poli. Po většinu tohoto kurzu se budeme zabývat elektromigračními separacemi odehrávajícími se v kapiláře. Proto si na začátek schematicky načrtneme, jak probíhá elektromigrační separace v kapiláře.

Samotný separační prostor tvoří kapilára, která je obvykle vyrobena z taveného křemene. Ten má oproti např. nerezové oceli výhodu v tom, že je elektrický izolant, takže elektrický proud během separace prochází roztokem uvnitř a nikoli materiálem kapiláry. Druhou výhodou je jeho transparentnost pro elektromagnetické záření ve viditelné a UV oblasti, která umožňuje UV/VIS detekci přímo v kapiláře. Vnitřní průměr kapiláry je nejčastěji 50 nebo 75 μm . Kapilára je naplněna základním elektrolytem a oba její konce jsou ponořeny do nádobek s tímto elektrolytem.

Na začátku experimentu se nádobka na vstupním konci kapiláry nahradí nádobkou s analyzovaným vzorkem. Do kapiláry se vpraví krátká zóna vzorku, obvykle natlakováním nádobky se vzorkem, případně vložením napětí. Ve starších přístrojích se tlakový rozdíl při dávkování vytvářel vyzdvižením nádobky, čímž vznikl rozdíl ve výšce hladin roztoků v nádobách spojených kapilárou.

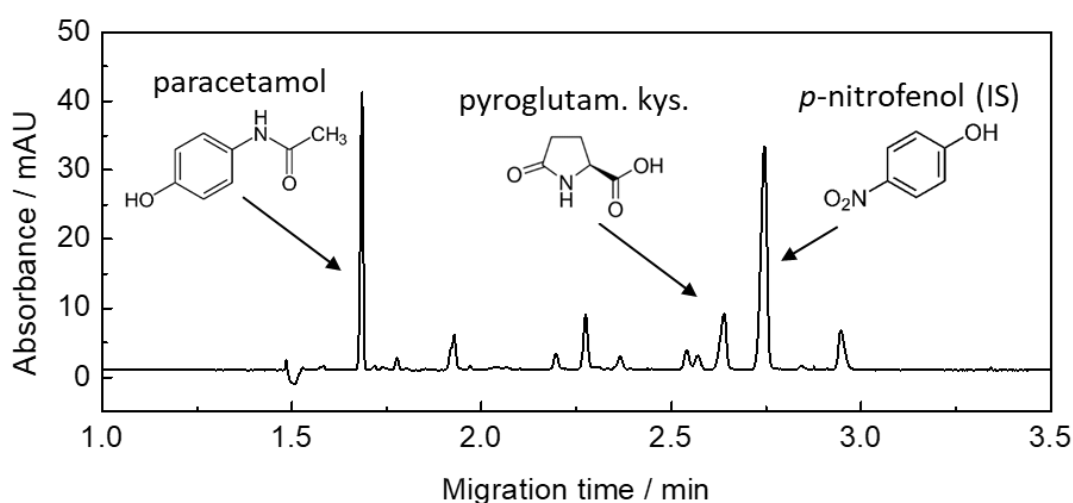
Následně se na místo nádobky se vzorkem vrátí nádobka se základním elektrolytem a na elektrody (obvykle platinové) se vloží napětí o velikosti 5-30 kV. V elektrickém poli pak nabitě analyty migrují různými rychlostmi kapilárou. Tím dojde k jejich separaci. Separované zóny uvnitř kapiláry pozorujeme prostřednictvím detektoru, který je umístěn poblíž výstupního konce kapiláry. Nejčastěji je detektorem UV/VIS spektrometr.



Obr. 1 Schematické znázornění provedení elektromigrační separace v kapiláře

Co z toho „vyleze“?

Výstupem ze separace je nejčastěji tzv. elektroferogram (někteří autoři preferují výraz elektroforeogram). Jedná se o obdobu chromatogramu v chromatografii a jde o graf závislosti odezvy detektoru na době uplynulé od začátku separace, tj. od vložení separačního napětí. Průchod zóny analytu detektorem se na záznamu projeví výkyvem signálu detektoru, a to v kladném nebo záporném směru, podle typu použité detekce. Tento výkyv signálu se nazývá „pík“, což je počestěný název převzatý z anglického „peak“. V české odborné literatuře se téměř výhradně používá tato počestěná verze „pík“. Ukázka elektroferogramu reálné separace je na **Obr. 2**. Jedná se o analýzu krevní plazmy pacienta s podezřením na předávkování paracetamolem. Jsou zde vyznačeny píky paracetamolu, pyroglutamové kyseliny, která je toxickým metabolitem paracetamolu, a *p*-nitrofenolu, který byl do vzorku přidán jako interní standard.



Obr. 2 Elektroferogram analýzy krevní plazmy pacienta. Vyznačeny jsou píky paracetamolu, jeho toxického metabolitu pyroglutamové kyseliny a *p*-nitrofenolu přidávaného do vzorku jako interní standard.

Kvalitativním parametrem, který je možno vyčíst z elektroferogramu, je poloha vrcholu píku na časové ose, tzv. **migrační čas** analytu. Z něho je možno vypočítat elektroforetickou mobilitu analytu. Kvantitativním parametrem je výška píku nebo plocha pod píkem, která se používá častěji. Jak výška, tak plocha pod píkem jsou v optimálním případě přímo úměrné koncentraci analytu ve vzorku.

Elektromigrace

Po velmi hrubém nástinu základních rysů se podíváme podrobněji na děje, které elektromigrační separace provázejí. Do elektromigračních separací se mohou zapojit nejrůznější separační mechanismy, o kterých se v průběhu kurzu více či méně podrobně zmíníme. Na začátku si probereme ten úplně základní mechanismus – elektromigraci.

Elektrostatická síla

Elektromigrace je pohyb nabitých částic v elektrickém poli. Ocítne-li se částice s elektrickým nábojem v elektrickém poli, začne na ni působit elektrostatická síla F_e , která ji přitahuje k opačně nabitě elektrodě. Není překvapivé, že velikost elektrostatické síly je rovna součinu intenzity elektrického pole E a velikosti náboje částice q :

$$F_e = q \cdot E \quad (1)$$

V rovnici se nevyskytuje velikost napětí U , ale intenzita elektrického pole E , která je definována jako napětí na jednotku délky l :

$$E = \frac{U}{l} \quad (2)$$

Je tomu tak proto, že není lhostejné, jak daleko od sebe jsou umístěny elektrody, na které je vloženo napětí. Pokud si představíme dvě elektrody, mezi které je vloženo napětí 100 kV, je zřejmé, že záleží na tom, jestli jsou od sebe vzdáleny 1 centimetr nebo 1 kilometr. Budeme-li elektrody, vzdálené původně jeden kilometr od sebe, postupně přibližovat, napětí bude stále stejné, a to 100 kV, ale s klesající vzdáleností bude vzrůstat intenzita elektrického pole, protože stejný rozdíl potenciálů (=napětí) se rozprostře do menší vzdálenosti. V určité vzdálenosti dosáhne intenzita elektrického pole tak vysoké hodnoty, že dojde mezi elektrodami k výboji. V elektromigračních metodách je proto intenzita elektrického pole často parametrem s větší vypovídací hodnotou než samotné napětí.

Nežijeme ve vakuu

Bude-li nabitá částice umístěna do elektrického pole ve vakuu, nebude nic brzdit její pohyb. Působící elektrostatická síla je konstantní a povede tedy k rovnoměrně zrychlenému pohybu. Částice se tak bude pohybovat se zrychlením a , které závisí na velikosti elektrostatické síly F_e a hmotnosti částice m , směrem k opačně nabitě elektrodě, dokud do ní nenarazí.

$$a = \frac{F_e}{m} \quad (3)$$

V elektromigračních metodách však k migraci nedochází ve vakuu ale v roztocích elektrolytů. Roztok klade pohybu nabitě částice odpor, který je způsoben nárazy migrující částice na molekuly rozpouštědla a ionty elektrolytu. Brzdná síla F_f , kterou roztok působí proti pohybu částice, je popsána Stokesovým zákonem. Roste s rychlostí pohybu v , neboť dochází k častějším a intenzivnějším nárazům na molekuly rozpouštědla. Čím je pohybující se částice větší, tím častěji narazí na molekuly rozpouštědla, velikost brzděné síly je proto také úměrná hydratovanému poloměru částice r . Míra odporu, který klade rozpouštědlo nabitě částici je v rovnici vyjádřena dynamickou viskozitou η .

$$F_f = -6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v \quad (4)$$

Rovnováha sil

Dostane-li se nabitá částice v roztoku do vnějšího elektrického pole, začne se pohybovat a její pohyb se zrychluje. Současně s jeho zrychlováním narůstá brzdná síla, kterou prostředí působí proti směru elektrostatické síly. Velmi rychle dospěje rychlost částice do hodnoty, při které se elektrická i brzdná síla vyrovnají, a částice se dále pohybuje konstantní rychlostí. Platí potom následující rovnice:

$$q \cdot \frac{U}{l} = 6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v \quad (5)$$

Elektroforetická mobilita (pohyblivost)

Elektromigraci lze charakterizovat prostou rychlostí pohybu nabité částice v . Nevýhodou tohoto způsobu však je, že hodnota rychlosti závisí na velkém množství experimentálních parametrů. Vyjádříme-li rychlost z rovn. 5, dostaneme:

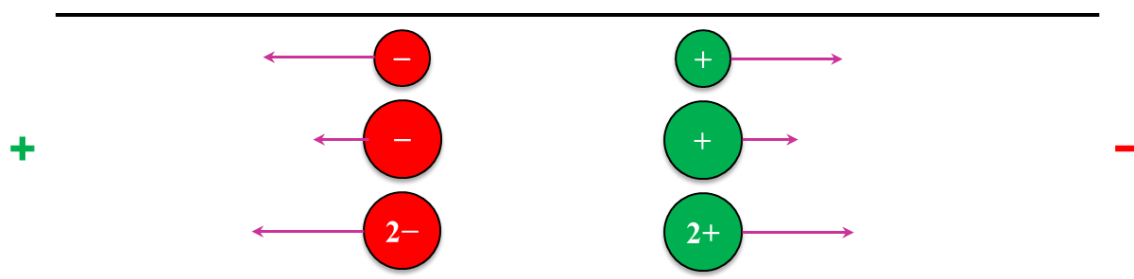
$$v = \frac{q \cdot U}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot l} \quad (6)$$

Rychlost migrace zde závisí na vlastnostech nabité částice (náboj, hydratovaný poloměr), vlastnostech roztoku základního elektrolytu (viskozita), uspořádání aparatury (vzdálenost mezi elektrodami) a nastavení přístroje (napětí). Je proto výhodné definovat veličinu **elektroforetická mobilita**, která zahrnuje pouze vliv vlastností nabité částice a roztoku základního elektrolytu, tato hodnota potom nezávisí na tom, jak vysoké napětí vložíme a jak daleko od sebe jsou umístěny elektrody. Elektroforetickou mobilitu získáme vztahem rychlosti migrace k intenzitě elektrického pole.

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{v \cdot l}{U} = \frac{q \cdot U \cdot l}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot l \cdot U} = \frac{q}{6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r} \quad (7)$$

Takto definovaná elektroforetická mobilita závisí již pouze na vlastnostech migrující částice a roztoku základního elektrolytu. Při dané teplotě a nekonečném zředění základního elektrolytu je pro daný ion konstantní a je tabelována jako tzv. **limitní iontová mobilita, μ^0** .

Z rovn. 7 jsou patrné vcelku intuitivní vztahy, a sice, že mobilita je přímo úměrná velikosti náboje iontu a nepřímo úměrná hydratovanému poloměru iontu, jak je znázorněno na **Obr. 3**. Dále je nepřímo úměrná dynamické viskozitě roztoku.



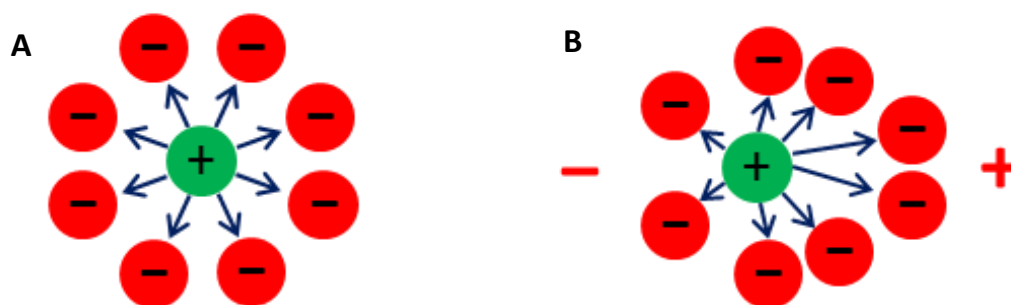
Obr. 3 Schématické znázornění vlivu poloměru a náboje iontu na výslednou rychlost jeho migrace (znázorněno délkou šipky).

Limitní mobilita versus realita

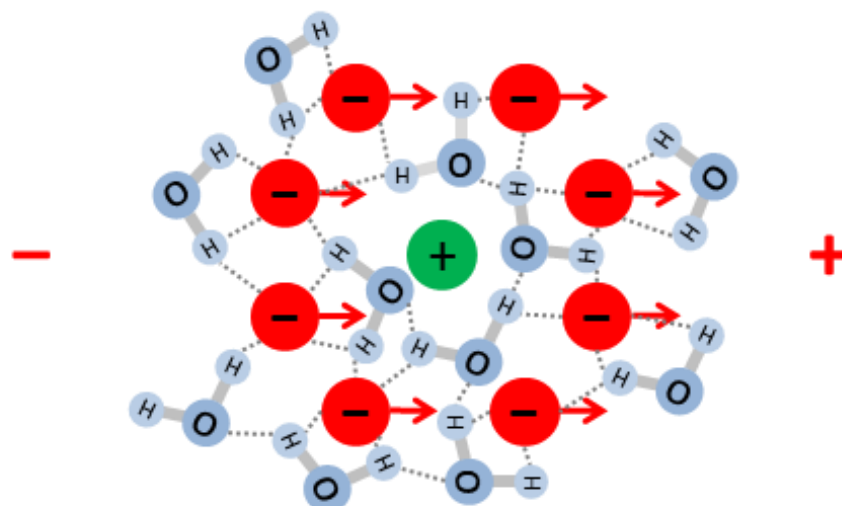
Jak již bylo zmíněno, limitní elektroforetická mobilita platí pro podmínky tzv. nekonečného zředění. V praxi elektromigračních metod však nikdy nepracujeme v extrémně zředěných roztocích základního elektrolytu, neboť je nutné, aby roztok vykazoval určitou elektrickou vodivost, takže nejčastěji pracujeme s roztoky o iontové síle v řádu 10^{-3} - 10^{-1} mol/l. Toto nezanedbatelné množství iontů základního elektrolytu způsobuje díky svým interakcím s ionty analytů odchylky od ideálního elektromigračního chování.

Přítomnost základního elektrolytu pozorovanou mobilitu analytů snižuje dvěma způsoby. První zpomalující efekt se nazývá **asymetrický** neboli **relaxační efekt**. Pro jeho pochopení využijeme koncept iontové atmosféry. Budeme-li se zajímat o migraci kationtu, v roztoku bude mít tento kation ve svém okolí anionty, které jsou k němu přitahovány elektrostatickou silou. Tomuto aniontovému „obalu“ se říká **iontová atmosféra**. V případě, že není vloženo externí elektrické pole, jsou anionty okolo kationtu rozmístěny rovnoměrně a těžiště této iontové atmosféry leží uprostřed ve stejném bodě jako těžiště našeho kationtu (**Obr. 4A**). Díky tomu, že je záporný náboj kolem našeho kationtu rovnoměrně rozprostřen v prostoru, jeho vlivy na kation se vzájemně vyruší. Je-li kation v externím elektrickém poli, migruje směrem ke katodě, zatímco anionty migrují směrem k anodě (**Obr. 4B**). Náš kation neztratí svou iontovou atmosféru, protože cestou potkává stále nové anionty, které mu migrují vstříc, nicméně tato protisměrná migrace obou typů iontů způsobí nesymetrii iontové atmosféry. Těžiště kationtu je posunuto směrem ke katodě, těžiště iontové atmosféry směrem k anodě. Díky tomuto nerovnoměrnému rozložení záporného náboje v prostoru kolem kationtu se síly aniontů působící na kation zcela nevyruší, ale mírně převládne jejich působení ve směru k anodě, které brzdí pohyb kationtu.

Druhým brzdícím efektem je **efekt elektroforetický**. Ze Stokesova zákona (rovn. 4) víme, že pohybující se kation je brzděn vlivem viskozity roztoku, která je způsobena vzájemnými interakcemi molekul rozpouštědla. Anionty v iontové atmosféře našeho kationtu migrují proti směru migrace kationtu, čímž uvádějí do pohybu i molekuly rozpouštědla. Díky tomuto lokálnímu protisměrnému pohybu rozpouštědla proti kationtu je posílen brzdící efekt viskozity. To je znázorněno na **Obr. 5**.

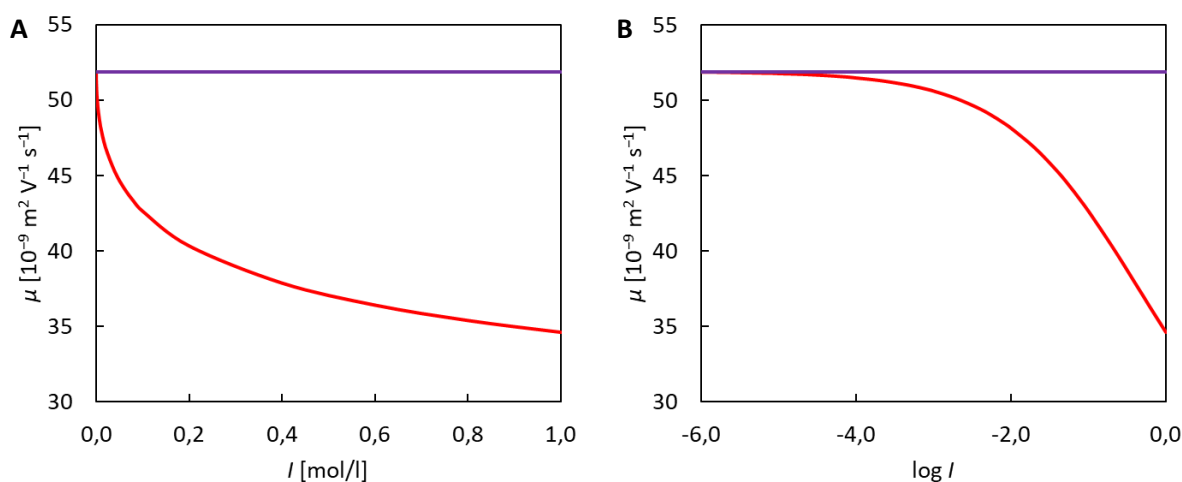


Obr. 4 Schematické znázornění vzniku relaxačního (asymetrického) efektu. Při absenci vnějšího elektrického pole (**A**) působí na kation iontová atmosféra aniontů rovnoměrně ve všech směrech. V přítomnosti elektrického pole (**B**) způsobí migrace iontů deformaci iontové atmosféry, jejíž těžiště je posunuto směrem k anodě. Nerovnoměrné silové působení iontové atmosféry způsobuje zpomalení migrace kationtu.



Obr. 5 Schematické znázornění elektroforetického efektu. Iontová atmosféra složená z aniontů se pohybuje směrem k anodě a strhává s sebou molekuly rozpouštědla. Tím se zesiluje brzdná síla viskozity roztoku.

Na **Obr. 6** je uveden pro ilustraci konkrétní příklad – závislost elektroforetické mobility sodného kationtu na iontové síle roztoku vypočítaný pomocí programu PeakMaster. Modrá čára značí limitní iontovou mobilitu sodného kationtu, červená čára mobilitu ovlivněnou iontovou silou roztoku. Na **Obr. 6A** je na vodorovné ose vynesena iontová síla. Tento graf nám dává představu o chování mobility při iontových silách v řádu setin a desetin mol/l. Zde je patrné, že mobilita poměrně rychle klesá a při vysokých iontových silách se tento efekt postupně saturuje. Na vodorovné ose **Obr. 6B** je vynesena dekadický logaritmus iontové síly. Tento graf nám dává představu o vlivu iontové síly přes několik koncentračních řádů, od 10^{-6} po 10^0 mol/l. Zde je vidět, že do iontové síly cca 10^{-4} mol/l je vliv na mobilitu zanedbatelný. Při vyšších iontových silách výrazně narůstá. V oblasti iontových sil, se kterými se běžně setkáváme v elektromigračních metodách (řádově 10^{-3} až 10^{-1} mol/l), je již efekt iontové síly významný.



Obr. 6 Vliv iontové síly základního elektrolytu na mobilitu sodného kationtu (červená čára). Modrá čára označuje limitní iontovou mobilitu Na^+ .

Jak se měří mobilita

V praxi se mobilita iontu nepočítá z jeho náboje, hydratovaného poloměru a viskozity roztoku, ale stanovuje se na základě migračního času, který se odečte z elektroferogramu. Vychází se z definice mobility, která je rovna rychlosti migrace iontu dělené intenzitou elektrického pole.

$$\mu = \frac{v}{E} \quad (8)$$

Rychlost migrace v metrech za sekundu se vypočítá jako vzdálenost od začátku kapiláry k detektoru l_D dělená časem, který iont potřebuje k jejímu překonání, tedy migračním časem t_{mig} .

$$v = \frac{l_D}{t_{\text{mig}}} \quad (9)$$

Po dosazení rovn. 9 a rovn. 2 do rovn. 8 získáme vztah:

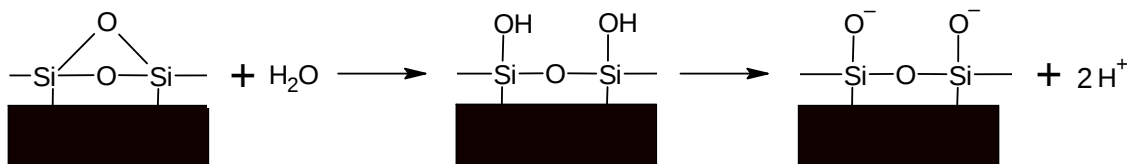
$$\mu = \frac{l_D \cdot l_C}{U \cdot t_{\text{mig}}} \quad (10)$$

Mobilita takto přímo vypočtená z hodnoty migračního času se v angličtině nazývá *apparent mobility*, v češtině se používají termíny **pozorovaná mobilita**, případně zjevná nebo zdánlivá mobilita.

Elektroosmotický tok

Elektroosmotický tok (EOF z angl. *electroosmotic flow*) je vedle elektromigrace druhým transportním jevem, který se významně podílí na pohybu zón analytů kapilárou. Obvykle se vysvětlení vzniku EOF zahajuje podrobným popisem elektrické dvojvrstvy u stěny kapiláry, což posluchače či čtenáře často zmate. Následuje zjednodušené vysvětlení vzniku EOF, kterému už zmatený čtenář neporozumí. Proto tento proces zkusíme obrátit.

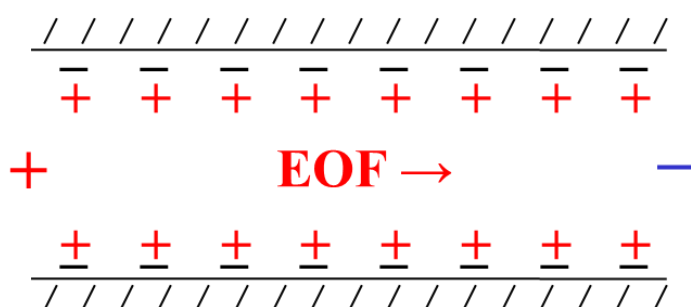
Křemenná kapilára obsahuje na svém povrchu siloxanové skupiny (**Obr. 7 vlevo**). V přítomnosti vody tyto siloxanové skupiny hydratují a vznikají skupiny silanolové (**Obr. 7 uprostřed**). Silanolové skupiny jsou v podstatě totéž jako kyselina křemičitá a chovají se proto jako slabá kyselina. V neutrálním nebo zásaditém prostředí disociují a stěna kapiláry tak získává záporný náboj (**Obr. 7 vpravo**).



Obr. 7 Vznik záporného náboje na povrchu křemenné kapiláry.

Záporný náboj na stěně kapiláry elektrostaticky přitahuje z roztoku uvnitř kapiláry kationty, jak je znázorněno na **Obr. 8**. Díky tomu se v blízkosti vnitřní stěny kapiláry vytvoří vrstva, ve které převažují kationty nad anionty (nadbytečný kladný náboj je kompenzován záporným nábojem stěny, takže elektroneutralita je zachována). Pokud vložíme mezi konce kapiláry napětí, začnou se kationty pohybovat ke katodě a anionty k anodě. Situace se bude lišit podle toho, zda se nacházíme v roztoku uprostřed kapiláry, nebo v blízkosti její stěny. Hluboko uvnitř kapiláry je v roztoku stejné množství

kationtů i aniontů a vlivy jejich protisměrného pohybu na molekuly rozpouštědla se vzájemně vyruší. Migrace iontů tak nezpůsobí celkový tok roztoku v kapiláře. „Stojícím“ rozpouštědlem se budou pouze prodírat kationty i anionty, každé svým směrem. U stěny kapiláry je ale situace odlišná. Převaha kationtů nad anionty způsobí převládající migraci kationtů ke katodě, která rozpohybuje i molekuly vody (nebo jiného rozpouštědla). Díky viskozitě rozpouštědla se tento pohyb přenesení i dovnitř do kapiláry a způsobí tok veškerého roztoku v kapiláře. Vložením elektrického pole tak vlastně čerpáme roztok od anody ke katodě.

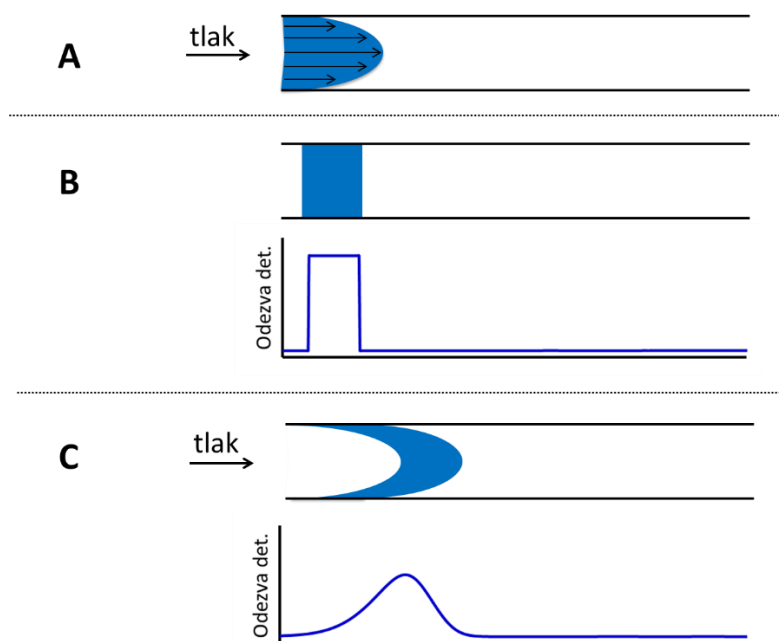


Obr. 8 Schematické znázornění vzniku elektroosmotického toku v křemenné kapiláře.

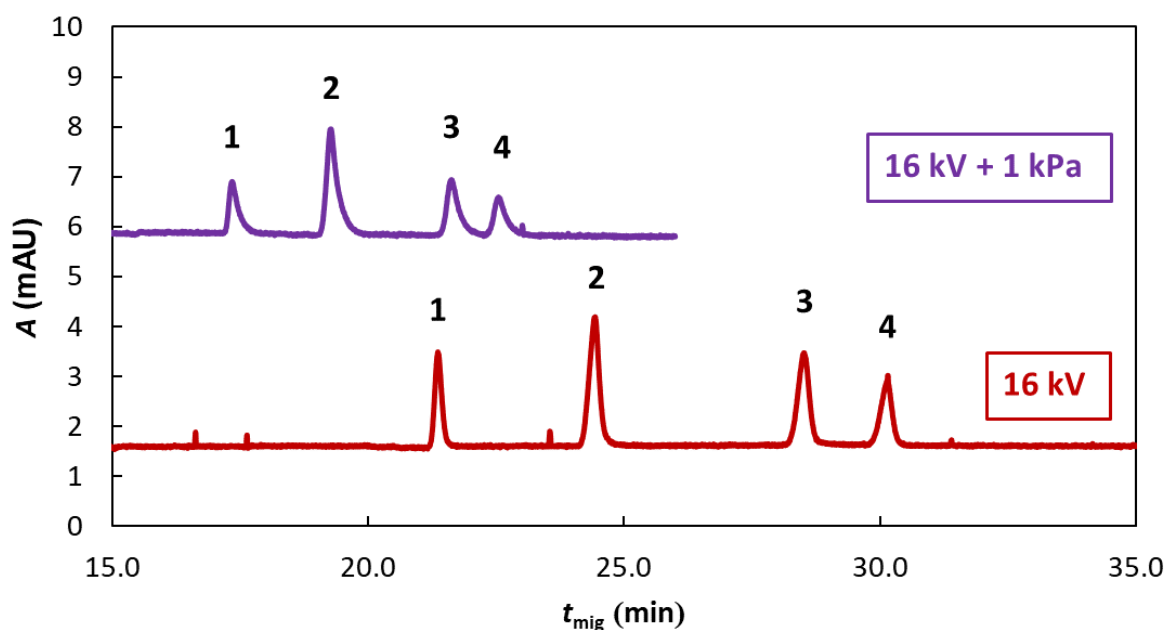
Rychlostní profily

Vzhledem k tomu, že vnitřní průměr kapiláry je velmi malý, dochází v ní k laminárnímu proudění kapaliny. Pokud je proudění kapaliny poháněno tlakem, způsobuje tření kapaliny o stěny kapiláry zpomalování rychlosti toku u stěn. Postupujeme-li od stěny kapiláry dovnitř, proudění se postupně zrychluje. Tok v kapiláře má potom parabolický rychlostní profil (**Obr. 9A**). Parabolický profil toku přispívá k deformaci, tzv. rozmývání zón a snížení účinnosti separace (**Obr. 9B a 9C**). Výhodou EOF ve srovnání s čerpáním kapaliny pomocí tlaku (např. chromatografickou pumpou) je z pohledu analytických separací principiální omezení rozmývání zón analytů, které umožňuje dosažení velmi vysokých účinností separace, a to bez vysokých nároků na přístrojové vybavení a použité materiály (srovnej s ultra-vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií, která sice rovněž umožňuje dosažení velmi vysoké účinnosti, kvůli pracovním tlakům až do 120 MPa však klade extrémní nároky na těsnost celého zařízení).

Reálná ukázka nepříznivého vlivu toku generovaného tlakem na tvar píků je na **Obr. 10**.



Obr. 9 A) Vznik parabolického profilu tlakem poháněného toku. B) Zóna analytu v kapiláře bez přítomnosti tlaku a odpovídající odezva detektoru (se zanedbáním difúze). C) Zóna analytu v kapiláře při tlakem hnaném průtoku a odpovídající odezva detektoru.



Obr. 10 Separace sacharidů sacharózy (1), laktózy (2), glukózy a fruktózy (4) v koncentraci 0,2 g/l. Červená křivka – separace v přítomnosti pouze EOF. Modrá křivka – separace za současného působení EOF a tlaku o velikosti 1 kPa vloženého na vstupní konec kapiláry.

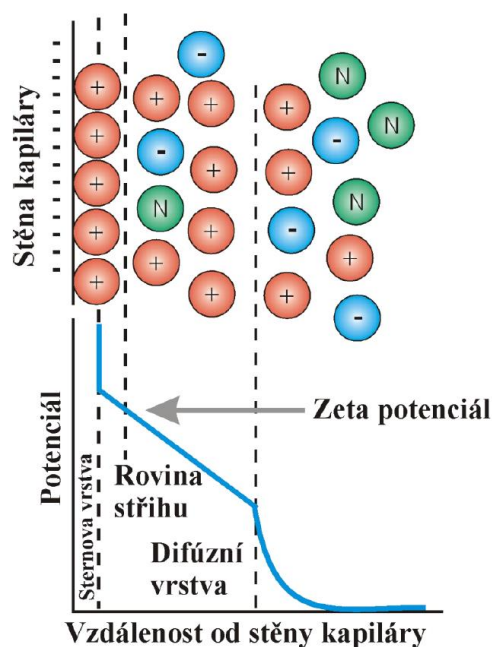
Podmínky: Křemenná kapilára 50 μ m ID, 65,0/56,5 cm. Základní elektrolyt 130 mM NaOH + 36 mM Na_2HPO_4 , pH = 12,8. Separační napětí +16 kV (proud cca 110 μ A). Dávkování vzorku 5 kPa $\times$ 3 s. Detekce přímá UV při 270 nm. Teplota 15 $^{\circ}\text{C}$.

A teď ta složitější verze...

Ve skutečnosti jsou děje, které se odehrávají u vnitřní stěny kapiláry, o něco složitější, jak je ukázáno na **Obr. 11**. Přímo na záporně nabitou stěnu kapiláry je adsorbována nepohyblivá vrstva kationtů, které tvoří tzv. Sternovu vrstvu. Tato vrstva se s EOF nepohybuje. Na Sternovu vrstvu navazuje difúzní vrstva, ve které jsou již ionty volně pohyblivé. Jsou zde přítomny kationty, anionty i neutrální molekuly, koncentrace kationtů ale výrazně převyšuje koncentraci aniontů. Převaha kationtů nad anionty je největší v blízkosti Sternovy vrstvy, směrem dovnitř do kapiláry se poměr postupně přibližuje k neutrálnímu roztoku. Rozdíly v obsahu kationtů a aniontů se projevují i rozdílným elektrickým potenciálem. Jak můžeme vidět, napříč difúzní vrstvou se potenciál mění z toho, který je v neutrálním roztoku uvnitř kapiláry, na ten, který je ve Sternově vrstvě (přítomny pouze kationty). Tento rozdíl potenciálů mezi neutrálním roztokem a Sternovou vrstvou se nazývá **Zeta potenciál ζ** . Jeho velikost udává míru „nadbytku kationtů“ u stěny kapiláry ve srovnání s neutrálním roztokem uvnitř kapiláry.

Mobilita elektroosmotického toku

Rychlostí EOF se v kapiláře pohybují všechny přítomné neutrální látky i molekuly rozpouštědla (nejčastěji vody). Díky tomu je možné mobilitu EOF poměrně snadno měřit tak, že se do měřeného vzorku přidá neutrální látka, kterou lze snadno zaznamenat použitým detektorem. Z jejího migračního času, který se rovná migračnímu času EOF, t_{EOF} , a délky kapiláry k detektoru l_D můžeme vypočítat rychlost EOF v_{EOF} .



Obr. 11 Naznačení struktury elektrické dvojvrstvy na vnitřní stěně kapiláry.

$$v_{\text{EOF}} = \frac{l_D}{t_{\text{EOF}}} \quad (11)$$

Mobilita EOF je definována obdobně jako mobilita analytu a můžeme ji vypočítat následovně:

$$\mu_{\text{EOF}} = \frac{v_{\text{EOF}}}{E} = \frac{l_D \cdot l_C}{U \cdot t_{\text{EOF}}} \quad (12)$$

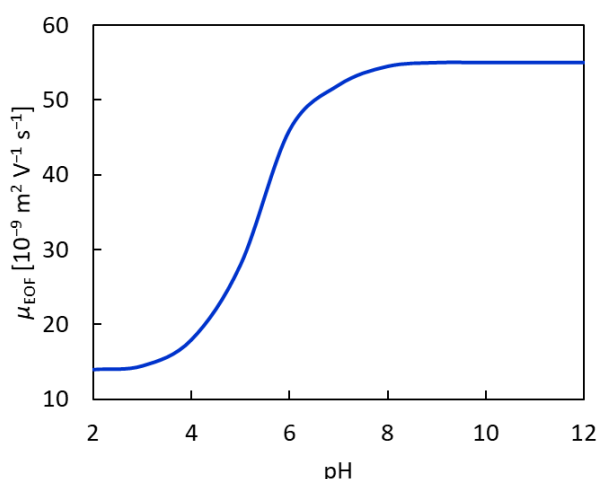
Rychlost EOF i jeho mobilita jsou přímo úměrné relativní permitivitě rozpouštědla ϵ a velikosti zeta potenciálu ζ a nepřímo úměrné dynamické viskozitě roztoku η .

$$\mu_{\text{EOF}} = \frac{\epsilon \cdot \zeta}{\eta} \quad (13)$$

Pokud si tento vztah opět lehce rozebereme, rostoucí zeta potenciál znamená rostoucí míru efektu, který EOF způsobuje, proto s ním roste i mobilita EOF. Naopak rostoucí viskozita pohyb roztoku v kapiláře zpomaluje, proto je jí mobilita EOF nepřímo úměrná.

Velikost zeta potenciálu

Velikost zeta potenciálu je ovlivněna primárně povrchovým nábojem stěny kapiláry. Vzhledem k tomu, že se křemen chová jako slabá kyselina, připomíná závislost mobility EOF na pH acidobazickou titrační křivku (**Obr. 12**).



Obr. 12 Závislost mobility elektroosmotického toku v kapiláře z taveného křemene na pH roztoku.

Z obrázku je patrné, že při nízkých hodnotách pH (3 a méně) je EOF do velké míry potlačen a jeho reziduální hodnota závisí na konkrétních experimentálních podmínkách. Při pH vyšším než cca 5 je naopak mobilita EOF poměrně vysoká, na úrovni iontových mobilit malých anorganických iontů.

Druhý faktor, který ovlivňuje hodnotu zeta potenciálu, je iontová síla roztoku. Představíme-li si situaci, kdy máme dvě shodné kapiláry naplněné stejným pufrý, které se výrazně liší pouze svou iontovou silou, náboj vnitřní stěny kapiláry bude v obou případech zhruba stejný, protože oba pufrý mají stejné pH a způsobí srovnatelnou disociaci silanolových skupin. V blízkosti stěny tedy bude i srovnatelné množství nadbytečných kationtů. Při malé iontové síle, a tedy malé celkové koncentraci iontů, je rozdíl potenciálů mezi stěnou kapiláry a roztokem výraznější. Nadbytečné kationty představují „větší procento“ celkového množství iontů. Při vyšší iontové síle velká koncentrace iontů

„naředí“ efekt nadbytečných kladných nábojů, což vede ke snížení zeta potenciálu a zmenšení tloušťky difúzní vrstvy. Tím se i do jisté míry zpomaluje EOF. Nutno poznamenat, že vliv iontové síly na mobilitu EOF je však menší, než vliv pH.

Dobrý sluha ale zlý pán

Vzhledem k tomu, že mobilita EOF se za vhodných podmínek vyrovná mobilitě relativně malých anorganických iontů, přítomnost rychlého EOF může být výhodou, protože umožní separace kationtů i aniontů v jednom měření, případně může danou separaci výrazně urychlit. Na druhé straně silná závislost EOF na stavu vnitřního povrchu kapiláry způsobuje v jistých případech problematickou reprodukovatelnost rychlosti EOF, čímž je ovlivněna i reprodukovatelnost migračních časů všech analytů.