

УДК 615.844.8

В.А. Сениченков, асс. каф. ПФОТТ

## ОСНОВЫ МЕТОДА КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

ABSTRACT: This paper reports in general on Capillary Electrophoresis method using for different physical and chemical analysis goals. Theoretical base, usual construction of the instrument and application region are reviewed.

Капиллярный электрофорез - метод анализа сложных смесей, использующий электрокинетические явления - электромиграции ионов и других заряженных частиц и электроосмос - для разделения и определения компонентов.

Эти явления возникают в растворах при помещении их в электрическое поле, преимущественно высокого напряжения. При этом происходит перемещение одной фазы относительно другой в электрическом поле и возникновение разности потенциалов при течении жидкости через пористые материалы (потенциал протекания) или при оседании частиц (потенциал оседания) [1].

Метод капиллярного электрофореза (КЭФ) появился сравнительно недавно. Первые упоминания о нем относятся к середине 70-х годов XX века. Затем, в 80-е годы были созданы и запущены в серийное производство первые приборы, и, наконец, в 90-е годы прокатился бум практического использования этого метода в аналитических лабораториях мира наряду с другими инструментальными методами. Надо заметить, что основные закономерности КЭФ были известны еще в конце XIX века. Эти явления были открыты профессором Московского университета Ф.Ф.Рейссом в 1809 году.

Основные процессы, происходящие в кварцевом капилляре, заполненном электролитом и помещенном в продольное электрическое поле можно представить следующим образом.

Плавленый кварц несет на своей поверхности почти исключительно силоксановые группы  $>Si=O$ . При контакте с водой силоксановые группы подвергаются гидролизу и образуют силанольные группы, которые затем гидратируются.

Скорость и степень гидролиза зависят от температуры и состава водного раствора. В частности - от величины pH. На границе раздела кварц-водный раствор электролита возникает так называемый «двойной электрический слой» ДЭС. Первую обкладку двойного слоя составляют отрицательно заряженные гидратированные силанольные группы. В приповерхностном слое электролита к отрицательно заряженной поверхности кварца примыкают гидратированные катионы, которые образуют вторую обкладку двойного слоя.

Из-за мощного электростатического взаимодействия с поверхностью часть катионов, так же как и силанольные группы, частично теряют гидратирующую воду, в результате чего первый слой катионов, непосредственно контактирующий с поверхностью, становится весьма малоподвижным. Остальная часть нейтрализующих заряд поверхности катионов распространяется в толщу раствора, образуя так называемую «диффузную часть» второй обкладки двойного слоя. Распределение катионов между неподвижным и диффузным слоями, а следовательно, и толщина двойного слоя, зависит в первую очередь от общей концентрации электролита в растворе. Чем она больше, тем большая часть положительного заряда диффузного слоя перемещается в неподвижный слой и тем меньшей становится толщина диффузного слоя. При концентрации электролита 10-4М толщина двойного слоя составляет в среднем 30-50 мкм. Таким образом, при диаметре внутреннего канала 50-100 мкм практически вся жидкость, заполняющая капилляр, представляет собой диффузную часть двойного электрического слоя.

При наложении электрического поля, направленного вдоль канала капилляра, в капилляре возникает движение носителей электрических зарядов во взаимно противоположных направлениях. Так как в диффузной части двойного слоя присутствует избыточная концентрация катионов, их движение увлекает за собой всю массу жидкости в капилляре вследствие молекулярного сцепления и трения. Возникает т.н. «электроосмотический поток» (ЭОП) направленный к катоду, который осуществляет пассивный перенос раствора внутри капилляра. Скорость ЭОП в сильной степени зависит от рН раствора и концентрации электролита в ведущем буфере: чем больше концентрация, тем меньшая часть катионов ДЭС остается в диффузном слое и соответственно уменьшается максимально возможная скорость ЭОП. Эта сложная комбинация различных по природе и свойствам процессов, происходящих в капилляре при наложении электрического поля, используемая для аналитических целей, получила название метод капиллярного электрофореза.

Минимальный состав аппаратной системы, реализующей принципы электрофоретического разделения, должен содержать: кварцевый капилляр, источник высокого напряжения, устройство ввода пробы, детектор и систему вывода информации.

Как правило, используют кварцевые капилляры с внешним полиимидным защитным покрытием (внутренний диаметр 50-75 мкм, внешний 365 мкм, общая длина 30-100 см). Для разделения используют положительные и отрицательные напряжения до 30 кВ; для ввода пробы применяют избыточное давление (гидродинамический способ) или высокое напряжение (электрокинетический способ). Объем вводимой в капилляр пробы составляет обычно несколько нанолитров.

Регистрацию электрофореграмм чаще всего осуществляют с помощью УФ-детектирования непосредственно в капилляре в прямом и косвенном вариантах.

Традиционно КЭФ сравнивают с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), поскольку в обоих методах разделение происходит в ограниченном пространстве (колонке или капилляре) с участием движущейся жидкой фазы и для детектирования используют аналогичные принципы. Преимуществами КЭФ по сравнению с ВЭЖХ являются:

- высокая эффективность разделения, недоступная ВЭЖХ и связанная с плоским профилем электроосмотического потока;
- малый расход реактивов, при этом практически не требуется применение дорогостоящих высокочистых растворителей: ацетонитрила, метанола, гексана;
- отсутствие прецизионных дорогостоящих насосов высокого давления, необходимых для ВЭЖХ;
- экспрессность анализа.

Из недостатков КЭФ нужно отметить ограниченное применение метода для образцов, плохо растворяющихся в водных или разбавленных водно-спиртовых растворах, кроме того, невысокую чувствительность при регистрации сигнала в капилляре из-за малой длины. Основные области применения: экологический и технологический контроль, пищевая промышленность, фармацевтика, биохимия и клиническая медицина, судебная экспертиза и криминалистика.

С научно-исследовательской точки зрения метод КЭФ представляет огромный интерес в плане физико-химических свойств при своей простоте, элементарной пробоподготовке и доступности оборудования. В России семейство систем КЭФ «Капель» выпускаются фирмой «Люмэкс» для решения широкого спектра вопросов.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Ануфриева Р.М., Комарова Н.В., Каменцев Я.С. и др. , «Система капиллярного электрофореза», СПб, «Изд-во Петрополис», 2001.