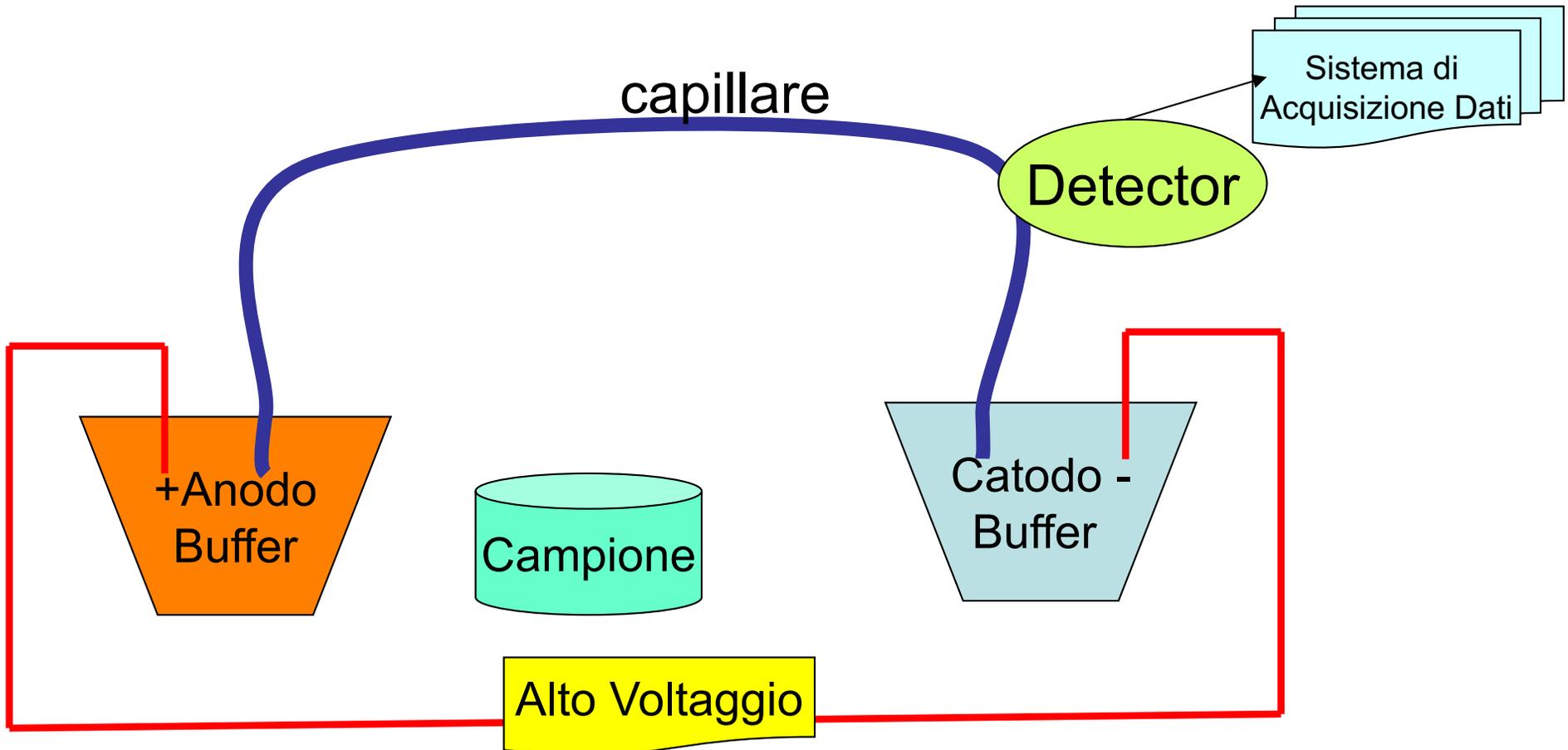


# ELETTROFORESI CAPILLARE

# Principi

- Separa molecole cariche all'interno di un campo elettrico.
- Il capillare di silice fusa di diametro molto piccolo, contenente un tampone appropriato pesca con le 2 estremità in due serbatoi separati, contenenti due elettrodi, responsabili della generazione del campo elettrico



- Rilevatori: uv o fluorescenza. Nell'ultimo caso o il campione deve emettere in fluorescenza oppure marcatore fluorescente.
- Il campione viene caricato per  $\Delta P$  ad un'estremità del capillare.

- **Vantaggi:**

*Calore prodotto dal campo elettrico dissipa velocemente per il rapporto favorevole fra superficie e volume. Si possono quindi applicare voltaggi più alti rispetto l'elettroforesi normale con conseguente separazione migliore e ridotti tempi analitici*

- SEPARAZIONE

La vel di migrazione dello ione dipende dall'equilibrio fra le forze di spinta del campo elettrico e le forze frenanti fra ioni e mezzo circostante. Il gradiente di potenziale è:

$$E = \Delta V / d \quad d \text{ distanza fra gli elettrodi, } \Delta V \text{ ddp}$$

# SEPARAZIONE

La particella carica nel campo elettrico è soggetta a 2 forze, una di spinta e una frenante:

$F_s = qE$ ;  $F_f = 6\pi\eta rv$  ( $\eta =$  viscosità del mezzo;  $r$  raggio particella,  $v$  vel di migrazione)

*La velocità di migrazione è costante quando siamo all'eq:*

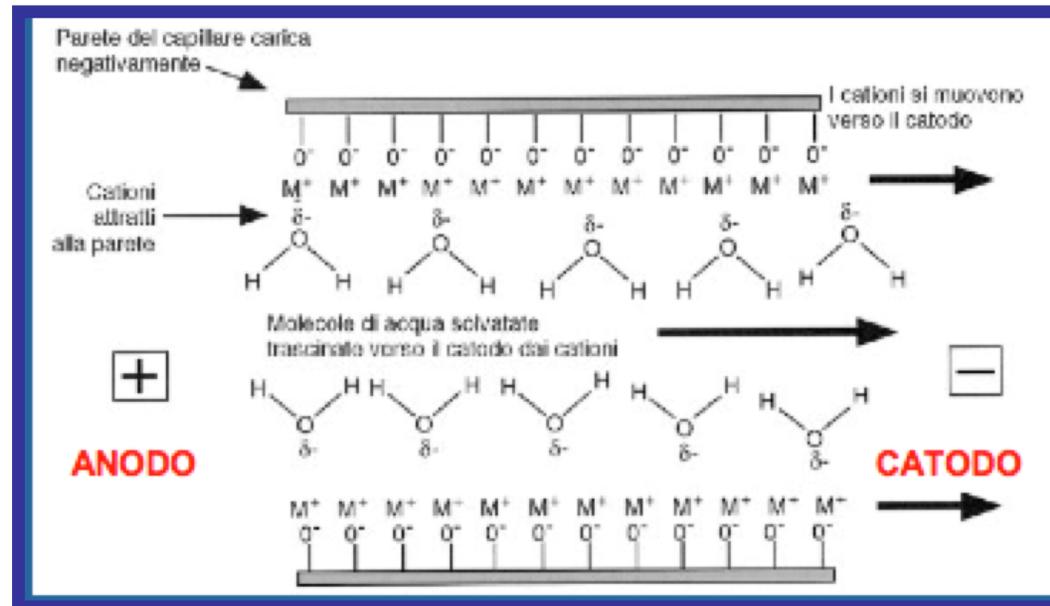
$F_s = F_f$ , quindi  $qE = 6\pi\eta rv$ , ovvero  $v = qE/6\pi\eta r$ , ma tutte le particelle sono sottoposte allo stesso campo elettrico e migrano nello stesso mezzo quindi  $K = E/6\pi\eta$  e di conseguenza  $v = Kq/r$ , quindi è proporzionale al rapporto carica su dimensioni della particella. Particelle più grandi pesano di più quindi è proporzionale al rapporto carica/massa.

La mobilità elettroforetica è dipendente da:

- Dimensione della molecola di analita
- **Tampone** (tipo di tampone, concentrazione e pH)
- **Temperatura**
- Forza del campo elettrico
- **Materiale di supporto**
- pKa della molecola di analita

Semberebbe che specie cariche diversamente seguano un verso opposto, ma ciò non si verifica per il fenomeno dell'**ELETTROSMOSI**.

1. Le pareti interne del capillare di silica sono cariche negativamente, quindi attira le cariche positive del buffer. (Memento: i gruppi silanolici acidi sono gruppi ionizzabili, aventi un pKa compreso tra 4,0 e 9,0. Il valore della carica negativa aumenterà, quindi, all'aumentare del pH.)



2. Questo determina un aumento del potenziale positivo man mano che ci si avvicina alle pareti e fa sì che le molecole di acqua che costituiscono il tampone si orientino di conseguenza.
3. Quando si applica il potenziale alle estremità del capillare i cationi in soluzione migrano verso il catodo. I cationi concentrati lungo le pareti del capillare possiedono una mobilità più elevata rispetto al resto del tampone e migrando trascinano le molecole di acqua di solvatazione. Si crea così un flusso, diretto verso il catodo, detto Flusso Elettrosmotico (EOF).

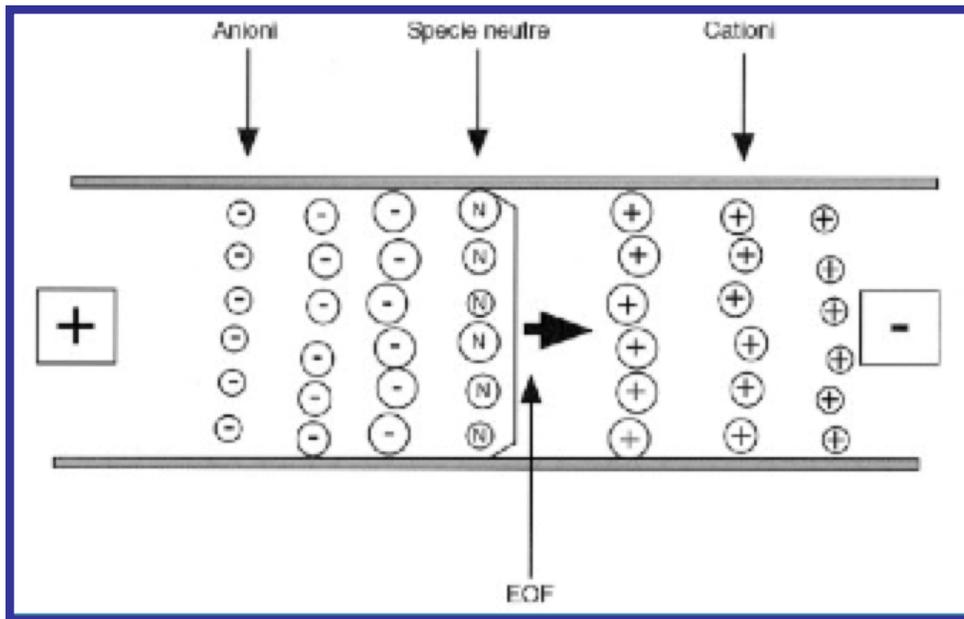
**L'esistenza del flusso elettrosmotico implica che tutte le specie, a prescindere dalla loro carica, migrino verso il catodo.**

La velocità di migrazione per le diverse specie è la seguente:

- Cationi: mobilità ionica + EOF
- Composti neutri: EOF
- Anioni: EOF – mobilità ionica

La velocità del flusso elettrosmotico supera la velocità con cui gli anioni si muoverebbero verso l'anodo se non ci fosse di circa dieci volte.

Es di separazione



## VARIABILI CHE INFLUENZANO IL FLUSSO ELETTROSMOTICO

1. pH del tampone.
2. Forza del tampone.
3. Campo elettrico.
4. Temperatura.

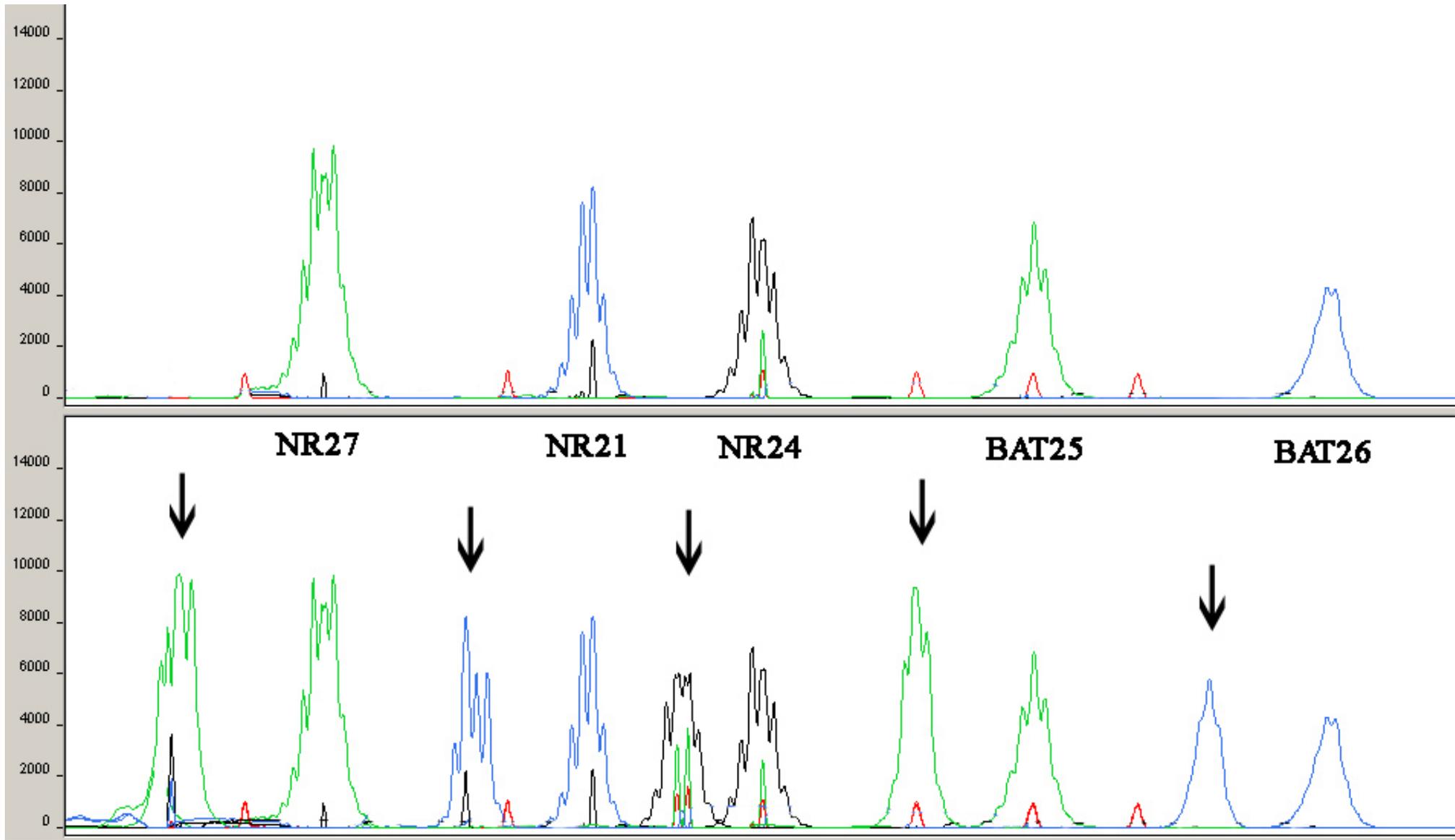
## **Tipi di molecole separabili con CE**

- amminoacidi
- peptidi
- proteine
- acidi nucleici
- ioni inorganici
- acidi e basi organiche
- intere cellule

## **Vantaggi dell'elettroforesi capillare**

- alta efficienza di separazione
- piccola quantità di campione
- separazione rapida
- selettività
- automazione
- possibilità di quantificazione
- riproducibilità
- possibilità di accoppiamento con spettrometro di massa

# Esempi: MSI in ca colici



# Esempi: MSI in ca colici

