

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyzikální a makromolekulární chemie

IONTOVÉ PÁROVÁNÍ
VYBRANÝCH KATIONTŮ S MICELOU
V SYSTÉMECH KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY

Ion pairing of some cations in micellar electrophoresis systems

Bakalářská práce
studijního oboru Chemie v přírodních vědách

Praha 2009

Ludmila Müllerová

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Prof., RNDr. Bohuslava Gaše, CSc. a že jsem všechny použité prameny řádně citovala.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 29. 5. 2009

.....

Poděkování

Děkuji svému školiteli Prof. RNDr. Bohuslavu Gašovi, CSc. za vedení mé práce i za možnost pracovat v jeho výzkumné skupině; RNDr. Janě Lokajové, PhD. za pomoc a vedení zejména v experimentální části mé práce; Doc. RNDr. Evě Tesařové, CSc., Mgr. Martině Riesové, Mgr. Janě Svobodové a RNDr. Vlastimilu Hruškovi, PhD. za cenné rady a morální podporu, Mgr. Květě Kalíkové a Mgr. Richardu Chudobovi za báječné pracovní prostředí a svým rodičům nejen za trpělivost.

Obsah

Použité zkratky a symboly	6
1 Úvod.....	8
2 Cíle práce	18
3 Experimentální část.....	19
3.1 Použité chemikálie	19
3.2 Instrumentace	19
3.3 Vyhodnocování dat	20
3.4 Základní elektrolyty	21
3.5 Vzorky.....	22
4 Výsledky a diskuse	23
4.1 Identifikace píků	23
4.2 Určení CMC.....	24
4.3 Mobility kationtů	26
5 Závěr	31
Reference	32

Použité zkratky a symboly

a – parametr velikosti iontu

BGE – background electrolyte, základní elektrolyt

β – poměr počtu protiiontů vázaných k micelle ku agregačnímu číslu

c – molární koncentrace

c^* – kritická micelární koncentrace

c_{DS} – koncentrace volného dodecylsulfátového aniontu

c_m – koncentrace micel

C^+ – kation

CMC – critical micelle concentration, kritická micelární koncentrace

DAD – diode array detector, detektor s diodovým polem

DS^- – dodecylsulfátový anion

Δp – přetlak

E – intenzita elektrického pole

EOF – electroosmotic flow, elektroosmotický tok

ε – permitivita prostředí

η – viskozita

F – Faradayova konstanta

HVL – Haarhoffova – Van der Lindeho funkce

I – iontová síla

k – směrnice lineární závislosti

k_1 – směrnice první polopřímky funkce složené ze dvou plynule spojených polopřímek

k_2 – směrnice druhé polopřímky funkce složené ze dvou plynule spojených polopřímek

l_D – délka kapiláry k detektoru

l_T – celková délka kapiláry

m – počet kationtů vázaných k micelle

M – micela

M^+ – protiion

mAU – miliabsorption unit, absorpční jednotka

MEKC – micelární elektrokinetická chromatografie

mM – milimolární, látková koncentrace milimol na litr

MOPS – Morfolinopropansulfonová kyselina

N – agregační číslo

N_A – Avogadrova konstanta

P – x souřadnice bodu dotyku obou polopřímek funkce složené ze dvou plynule spojených polopřímek

q_1 – úsek vytnutý první polopřímkou funkce složené ze dvou plynule spojených polopřímek

R – univerzální plynová konstanta

s – parametr povlnnosti přechodu obou polopřímek funkce složené ze dvou plynule spojených polopřímek

SDS – sodium dodecylsulfat, dodecylsulfát sodný

t – migrační čas

t_{EOF} – migrační čas EOF

Tris – Tris(hydroxymethyl)aminomethan

v – rychlost

U – vkládané napětí

UV – ultraviolet, ultrafialová oblast spektra

u_{eff} – efektivní mobilita

u_{EOF} – mobilita elektroosmotického toku

u_{lim} – limitní mobilita

u_{lim}^* – limitní mobilita protiiontu

u_{rel} – relativní mobilita, poměr původní a aktuální efektivní mobility

$u(0)$ – mobilita kationtu při nulové koncentraci surfaktantu

VIS – visual, viditelná oblast spektra

z – nábojové číslo

z^* – nábojové číslo protiiontu

1 Úvod

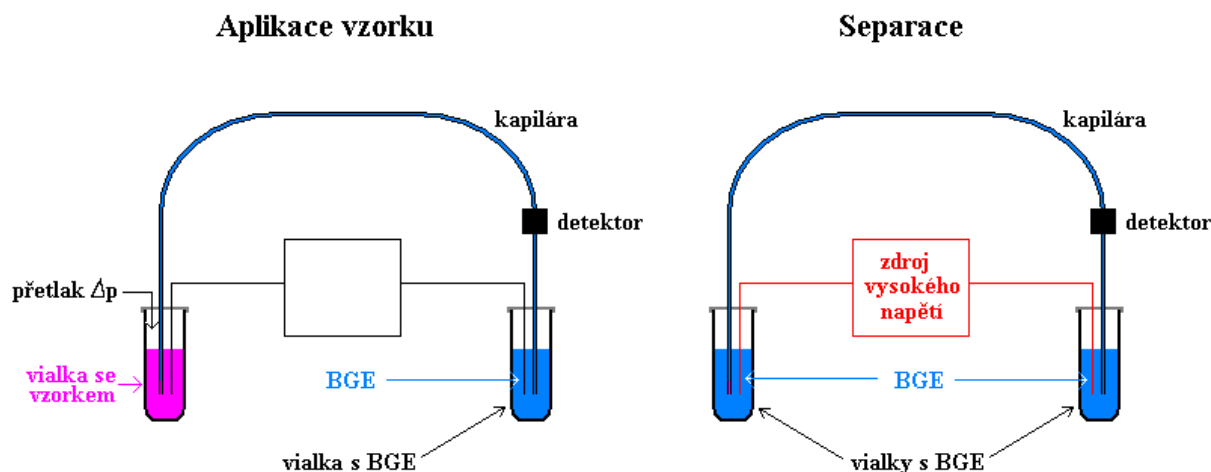
Elektroforéza jako analytická separační metoda založená na rozdílných migračních vlastnostech látek v elektrickém poli existuje již dvě stě let. Elektroforéza prováděná ve volném roztoku v tenkých kapilárách, kapilární elektroforéza, je studována od sedmdesátých let dvacátého století a patří dnes mezi velmi rozšířené a jedny z neúčinnějších a nejcitlivějších analytických separačních metod.

Mezi módy kapilární elektroforézy patří například zónová elektroforéza, izotachoforéza nebo micelární elektrokinetická chromatografie. Tyto separační metody dnes nacházejí široké uplatnění a rutinně se využívají především v oblastech biochemie a farmacie. Je ale možné je také využít k určení fyzikálních a chemických konstant a ke studiu dějů probíhajících v roztocích a naopak lepší porozumění procesům, k nimž během separace dochází, umožňuje další rozvoj těchto metod.

Kapilární elektroforéza

Separace v kapilární elektroforéze se provádí v základním elektrolytu (BGE). Základní experimentální uspořádání uvedeno na obrázku 1. Po aplikaci úzké zóny vzorku na začátek kapiláry (dávkování se většinou provádí aplikací přetlaku čili hydrodynamicky) se na její konce vloží vysoké napětí, které v kapiláře vytvoří elektrické pole považované za homogenní podél celé délky kapiláry a jehož intenzitu E v kapiláře o celkové délce l_T tedy určuje vztah (1):

$$E = \frac{U}{l_T} \quad (1)$$



Obrázek 1: Zkladní experimentální uspořádání kapilární zónové elektroforézy.

Látky přítomné ve vzorku migrují podél kapiláry různými rychlostmi v úměrnými součtu efektivní mobility dané látky u_{eff} a mobility elektroosmotického toku (EOF) (2):

$$v = (u_{eff} + u_{EOF})E \quad (2)$$

Vzorek se rozdělí na oddělené zóny jednotlivých analytů. Pokud EOF směřuje ke katodě (případ křemenné kapiláry), pohybují se z látek přítomných ve vzorku nejvyššími rychlostmi kationty, všechny neutrální látky se pohybují rychlostí EOF (v tomto módu kapilární elektroforézy je tedy nelze separovat, ale mohou sloužit jako markery EOF), anionty se pohybují rychlostmi nejnižšími.

Migrační časy jednotlivých separovaných látek, analytů, lze odečíst z elektroferogramu, což je záznam odezvy detektoru v závislosti na době od vložení napětí. Efektivní mobility u_{eff} jednotlivých látek pak lze vypočíst na podle vztahů (3) a (4):

$$u_{eff} = \frac{l_T l_D}{tU} - u_{EOF} \quad (3)$$

$$u_{EOF} = \frac{l_T l_D}{t_{EOF} U} \quad (4)$$

kde t je migrační čas příslušného analytu, t_{EOF} migrační čas EOF markeru, U aplikované napětí, l_T celková délka kapiláry a l_D délka kapiláry k detektoru [1]. V tomto kontextu se tedy efektivní mobilitou rozumí mobilita látky při daném pH a iontové síle roztoku.

Nepřímá detekce

Při použití přímé detekce (například přímé UV absorpční nebo přímé fluorescenční detekce) reaguje detektor pouze na průchod analytu s potřebnými vlastnostmi (například absorbujícího při dané vlnové délce nebo obsahující fluorofor). Pokud není možné detekovat analyt takovýmto způsobem, zbývá možnost použít nepřímou detekci. Pokud alespoň jedna složka BGE vyvolává odezvu detektoru (například absorbuje při vhodné vlnové délce), je možné pozorovat průchod zóny analytu jako momentální pokles této odezvy (na elektroferogramu se projeví jako negativní pík). Při tomto způsobu detekce bude ale elektroferogram obsahovat i píky neodpovídající žádnému z analytů, píky systémové, o kterých bude pojednáno dále [2].

Vliv iontové síly na hodnotu efektivní mobility

V reálných roztocích se v důsledku Coulombických interakcí budou anionty nacházet spíše v blízkosti kationtů než aniontů a naopak, v časovém průměru je pak každý ion obklopen kulovým obalem (takzvanou iontovou atmosférou), ve kterém převažují ionty nabitě opačně oproti náboji centrálního iontu (protiionty) [3]. Vznik iontové atmosféry vede ke snížení energie iontu a má vliv na jeho migrační vlastnosti. Tento vliv lze kvantifikovat na základě znalosti iontové síly roztoku.

Iontová síla charakterizuje iontovou koncentraci v roztocích a zahrnuje současně mocenství iontů. Je definována vztahem (5):

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 \quad (5)$$

kde c_i jsou koncentrace jednotlivých iontů přítomných v roztoku a z_i jejich nábojová čísla [4]. Její vliv na mobilitu u_{eff} částice popisuje rozšířený Onsagerův model (6):

$$u_{eff} = u_{lim} - \left(u_{lim} B_1 |z' z| \frac{q}{1 + \sqrt{q}} + z B_2 \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + Ba\sqrt{I}} \quad (6)$$

$$B_1 = \frac{\sqrt{2}F^3}{12\pi N_A (\varepsilon RT)^{\frac{3}{2}}}$$

$$B = \frac{\sqrt{2}F}{(\varepsilon TR)^{\frac{1}{2}}}$$

$$B_2 = \frac{\sqrt{2}F^2}{6\pi N_A \eta (\varepsilon RT)^{\frac{1}{2}}}$$

$$q = \frac{|z'z|}{|z'| + |z|} \frac{|u_{\text{lim}}'| + |u_{\text{lim}}|}{|z'u_{\text{lim}}'| + |zu_{\text{lim}}|}$$

kde u_{lim} je limitní mobilita částice, tedy mobilita extrapolovaná na nulovou iontovou sílu a z její nábojové číslo, u_{lim}' a z' jsou limitní mobilita a nábojové číslo protiiontu, F je Faradayova konstanta, N_A Avogadrova konstanta, R plynová konstanta, ε permitivita a η dynamická viskozita roztoku, a je parametr velikosti iontu, čili nejkratší možná vzdálenost mezi středy iontu a protiiontu [5]. Absolutní hodnota efektivní mobility tedy klesá s rostoucí iontovou silou roztoku. Tento model zohledňuje nenulovou velikost částic a dobře popisuje systémy do iontové síly přibližně 75 mM. Byl ale navržen pro popis závislosti vodivosti na koncentraci silného binárního elektrolytu skládajícího se z jednoho kationtu a jednoho aniontu. Komplikovanější směsi obsahující více druhů iontů popisuje Onsagerův – Fuossův model [6], který se od rozšířeného Onsagerova modelu výrazněji odchyluje především, pokud se v základním elektrolytu v relevantních koncentracích vyskytují ionty s mobilitami výrazně odlišnými od mobilit iontů analyzovaných, jedná se zejména o velmi pohyblivé ionty oxoniové a hydroxidové ve výrazněji kyselých popřípadě bazických roztocích.

Simulační program PeakMaster

V kapilární zónové elektroforéze může být nalezení vhodného separačního systému pro danou směs analytů klasickým postupem pokus-omyl jak časově tak materiálně a finančně velmi náročné. Protože separace probíhá v homogenním roztoku v kapilárách o jednoduché geometrii, je možné ji poměrně detailně teoreticky popsat. Pro popis průběhu separace jsou potřebné rovnice acidobazických rovnováh a rovnice kontinuity, parciální diferenciální rovnice v principu nelineární. Mohou být řešeny numericky, to ale vyžaduje mnoho času a velkou výpočetní kapacitu. Předpoklad, že koncentrace separovaného analytu je výrazně nižší než koncentrace složek základního elektrolytu, umožňuje tyto rovnice linearizovat. Program PeakMaster obsahuje implementovaný tento linearizovaný model a na základě vložených parametrů experimentu zadaných uživatelem (délka kapiláry, vložené napětí, EOF, složení BGE a vzorku) simuluje výsledky separace.

Poskytuje základní charakteristiky BGE (pH, iontovou sílu, vodivost, pufrací kapacitu a koncentrace jednotlivých forem složek BGE), elektroforetické charakteristiky analytů (efektivní mobility, tendenci k elektromigrační disperzi čili deformaci píků do trojúhelníkového tvaru a veličiny jimž jsou úměrné signály přímé popřípadě nepřímé UV nebo vodivostní detekce), simulovaný elektroferogram a mobility systémových píků (viz dále). Program umožňuje interaktivně měnit parametry experimentu a tímto způsobem na základě simulací vybrat optimální separační systém [2,7].

Micely

Surfaktanty (povrchově aktivní látky, detergenty), tedy látky, jejichž molekuly obsahují jak polární tak nepolární část, se mohou ve vodných roztocích shlukovat a tvořit takzvané micely, agregáty (klastry) koloidních rozměrů. Surfaktanty mohou být anionické, kationické, zwitterionické nebo bez náboje, ve většině případů se skládají z polární „hlavy“ a nepolárního uhlovodíkového „ocasů“. Micely se v roztoku tvoří, pokud je jeho teplota vyšší než takzvaná Kraftova teplota a koncentrace surfaktantu vyšší než kritická micelární koncentrace (critical micelle concentration, CMC). Micely jsou dynamické útvary, které neustále vyměňují monomery surfaktantu s okolním roztokem. V nejjednodušším případě jsou pokládány za sférické, přičemž nepolární části molekul se orientují do centra micely a polární směrem do vodného roztoku a vytvářejí polární „povrch“ micely [1,3]. K micelizaci dochází v důsledku dvou proti sobě působících sil, hydrofobní interakce mezi nepolárními „ocasy“ surfaktantu podporuje agregaci zatímco elektrostatická nebo sterická repulze mezi „hlavami“ molekul omezuje výslednou velikost vzniklé micely [8].

Jedním z nejprostudovanějších detergentů tvořících micely je dodecylsulfát sodný (SDS), používají se i soli dodecylsulfátu s jinými kationty (protiionty). Dodecylsulfátové anionty v roztoku (pokud je překročena CMC a Kraftova teplota) tvoří záporně nabitě micely. Jestliže pokládáme dodecylsulfát sodný ve vodném roztoku za plně disociovaný na sodný kation a dodecylsulfátový anion, lze vznik micel popsat rovnicí (7):



kde N je agregační číslo, počet molekul tvořících jednu micelu. Průměrná hodnota toto agregačního čísla se pro SDS v literatuře uvádí (v závislosti na experimentálních podmínkách a použité metodě měření) jako 40 – 100, za nejpravděpodobnější se pokládá hodnota agregačního čísla kolem 65 [9]. Pro koncentraci micel v roztoku c_m platí vztahy (8).

$$c_m = 0 \text{ pro } c_{DS} + N c_m < c^*$$

$$c_m = (c_{DS} + N c_m - c^*)/N \text{ pro } c_{DS} + N c_m > c^* \quad (8)$$

kde c_{DS} je koncentrace volného dodecylsulfátového aniontu (DS^-), c_m koncentrace micel (DS_N^{N-}) a c^* je CMC. [10]

Micelární elektrokinetická chromatografie (MEKC)

Tento mód kapilární elektroforézy vyvinutý v osmdesátých letech (Terabe *et al.* [11]) kombinuje separační principy elektroforetické a chromatografické. Využívá experimentální uspořádání kapilární elektroforézy, ale vlastní separace probíhá na základě rozdílů v distribuci látek mezi dvě vůči sobě se pohybující fáze. Základním elektrolytem je vodný roztok obsahující nabitě, nejčastěji dodecylsulfátové micely, takzvanou micelární fázi. Vodná fáze se pohybuje v důsledku přítomnosti EOF, zatímco pohyb micel je výsledkem kombinace jejich migrace a elektroosmózy (výsledná rychlost dodecylsulfátových micel v křemenné kapiláře je nižší než rychlost vodné fáze, proto se micelární fáze nazývá pseudostacionární).

Separace neutrálních látek ve vzorku je založena na tom, že hydrofobnější látky mají větší tendenci inkorporovat se do micel. Látky zcela solubilizované v micelách budou migrovat rychlostí pseudostacionární fáze, látky do micel vůbec nevstupující budou migrovat s rychlostí EOF, migrační rychlosti všech ostatních budou dány jejich rovnovážnou distribucí mezi micelární a vodnou fázi. MEKC lze použít i pro separace směsí neutrálních a nabitých látek nebo iontů o velmi blízkých mobilitách. Tato metoda se dnes nejčastěji používá v oblastech farmacie a biotechnologie [1].

Interakce dodecylsulfátových micel s kationty

Pokud předpokládáme, že dodecylsulfát tvořící micely není plně disociován a část protiontů M^+ (v případě SDS je protiiontem sodný kation) je vázána k záporně nabitě micelle, pak micelizaci popisuje rovnice (9):



kde β je poměr protiiontů vázaných k micelle ku agregačnímu číslu, hodnota parametru β mírně klesá s rostoucí teplotou a klesá s rostoucí iontovou silou roztoku [9] a může být různá pro různé kationty.

Pokud se v roztoku vyskytují i jiné kationty C^+ než protiionty detergentu tvořícího micely, mohou také interagovat s micelou, vázat se na její povrch a tento proces lze popsat rovnicí (10):



kde M je micela (pro zjednodušení zápisu není uváděn její náboj) a m počet kationtů vázajících se na povrch micely, který opět může být různý pro různé kationty.

Rozdíly v interakcích různých kationtů s micelou byly v minulosti studovány mimo jiné v rámci jejich využití pro optimalizaci separací prováděných metodou MECK. Ahuja a Foley ve své práci [12] sledovali vliv použitého protiiontu dodecylsulfátu na výsledky separací kapilární elektrokinetickou chromatografií, byly porovnávány protiionty lithný, sodný a draselný. Autoři předpokládali, že kationty s větším hydrodynamickým poloměrem se budou na povrch micely z prostorových důvodů vázat méně, což způsobí větší elektrostatickou repulzi (respektive menší snížení repulze) mezi nabitými sulfátovými skupinami a z toho vyplývající lepší přístupnost povrchu i vnitřku micely pro analyty a tedy i rychlejší výměnu analytu mezi vodnou mobilní a micelární pseudostacionární fází, což by se mělo odrazit v menším rozšiřování zón analytů a z toho vyplývající větší efektivitě separace. Tyto předpoklady se také potvrdily, když efektivita separace v závislosti na použitém protiiontu stoupala v pořadí $K^+ < Na^+ < Li^+$, tedy ve stejném pořadí v jakém roste hydrodynamický poloměr kationtů.

Stejný trend v rámci homologické řady pro míru interakce kationtu s micelou pozorovali i McLaren *et al.* [13] při studiu vlivu přidavku jednosytných solí (LiCl, NaCl a RbCl) na separaci fluorescencně značených aminokyselin micelární kapilární elektroforézou s použitím dodecylsulfátu sodného jako surfaktantu tvořícího micely. Kation soli přidané do základního elektrolytu se také váže na povrch micely, snižuje elektrostatickou repulzi mezi záporně nabitými sulfátovými skupinami a přispívá tak k větší kompaktnosti micely. To má za následek jednak horší přístupnost micely pro analyt a také nižší hydrataci a s tím související zvýšení hydrofobního charakteru micely. Pokles afinity hydrofilních aminokyselin k micelě v systémech se stejnou koncentrací solí se zmenšoval v řadě $Rb^+ > Na^+ > Li^+$, což odpovídá klesající míře interakce kationtu s micelou v témž pořadí.

V práci Joshiho *et al.* [8] byly sledovány změny struktury micely v závislosti na jejím protiiontu. Metodou maloúhlového neutronového rozptylu byly studovány velikost a tvar micel tvořených surfaktanty LiDS, NaDS, KDS, RbDS a CsDS. Ze získaných dat byl určován mimo jiné frakcionální náboj, náboj připadající na jednu sulfátovou skupinu v micelě. Absolutní hodnota tohoto náboje klesala od LiDS k CsDS a ve stejném pořadí rostla velikost micely a tedy i agregační číslo. Cesný kation byl tedy nejefektivnější ve stínění náboje sulfátové skupiny a kation lithný byl efektivní nejméně. Autoři předpokládali, že to způsobovala různá distribuce protiiontů kolem micely a tyto rozdíly připisovali různé hydrofilicitě kationtů klesající od lithia k cesiu, přičemž hydrofilnější kationty by zůstávaly více ve vodném roztoku, kdežto hydrofobnější by se zdržovaly blíže micely a lépe stínily její náboj. Lepší stínění náboje a tedy menší repulze mezi sulfátovými skupinami má za následek větší rozměry micely.

Iontová síla v roztocích obsahujících micely

Shanks a Franses ve své práci [9] konstatují, že micely s vysokým nábojem nepřispívají k iontové síle stejným způsobem jako malé neagregované ionty. Na základě měření vodivosti roztoků SDS testovali mimo jiné řadu modelů popisujících příspěvek micel k iontové síle a experimentálně získaným výsledkům nejlépe odpovídala rovnice (11):

$$I = \frac{1}{2} [2c^* + nc_m(1 - \beta)^2] \quad (11)$$

Podle tohoto modelu přispívají k iontové síle pouze neagregované dodecylsulfátové molekuly (monomery) a jejich protiionty a jen částečně protiionty molekul surfaktantu tvořících micely, jejichž příspěvek je úměrný jejich koncentraci s konstantou úměrnosti arbitrárně stanovenou na $(1 - \beta)$.

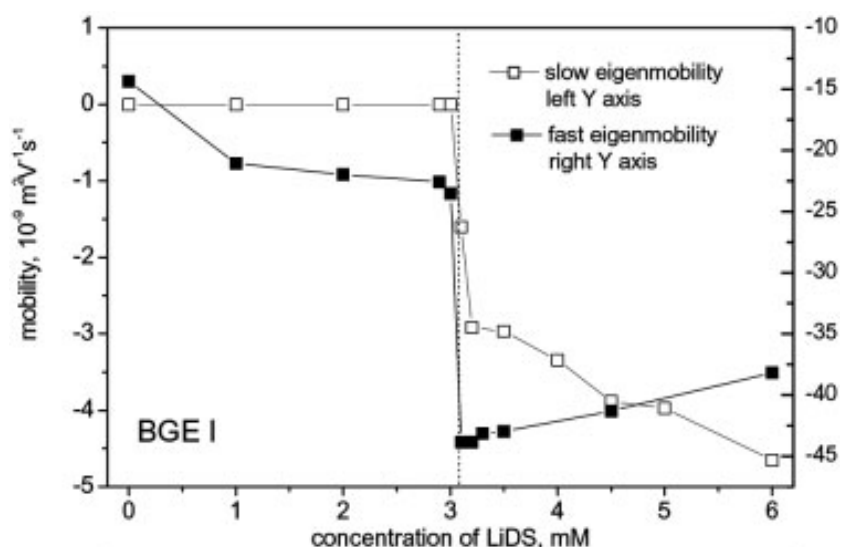
Program PeakMaster (který byl použit pro výpočet iontové síly BGE v experimentální části této práce) počítá příspěvek soli dodecylsulfátu k iontové síle roztoku tak, jako by molekuly nebyly agregované. I v tomto modelu přispívají micely k iontové síle méně než by odpovídalo vztahu (5), protože zde vystupuje náboj částice (pro micelu $N^*\beta$) umocněný na druhou.

Systémové píky a určování kritické micelární koncentrace

Při kapilární zónové elektroforéze vzniká nadávkováním vzorku do kapiláry porucha v původně homogenním základním elektrolytu a ta má za následek vznik takzvaných systémových zón, které se mohou pohybovat kapilárou (ať už elektroforeticky, tedy s vlastní mobilitou, nebo působením elektroosmotického toku) a při průchodu kolem detektoru vyvolat odezvu označovanou jako systémový pík. Protože tato porucha neodpovídá žádnému analytu, zaznamená ji detektor pouze tehdy, pokud reaguje na změnu v koncentraci alespoň jedné složky základního elektrolytu, především pokud je použita nepřímá nebo vodivostní detekce. Mobility systémových zón respektive píků se nazývají systémové eigenmobility. Počet vzniklých systémových zón je roven počtu složek základního elektrolytu. Složkou základního elektrolytu se rozumí kyselina, zásada nebo amfolyt s libovolnou sytností [10]. Každá z těchto zón migruje s eigenmobilitou, jejíž hodnotu lze získat jako vlastní hodnotu jisté matice [14] popisující systém, v němž elektroforéza probíhá.

Systémové píky jsou většinou chápány jako rušivý jev, protože komplikují interpretaci elektroferogramů. Mohou však být využity k získání informací o systému, ve kterém se vyskytly. V práci [15] byl popsán způsob, jak je možné pomocí sledování eigenmobilit v systému, kde je přítomna látka schopná tvořit micely, určit kritickou micelární

koncentraci (CMC). Některé eigenmobility v systému, kde je přítomen surfaktant, silně závisejí na tom, zda je v roztoku přítomen surfaktant pouze volný (koncentrace surfaktantu je menší než CMC) nebo zda se v roztoku zformovaly micely (koncentrace vyšší nebo rovna CMC). Závislosti záporných eigenmobilit (pomalého a rychlého aniontového systémového píku) na koncentraci surfaktantu, v tomto případě dodecylsulfátu, vykazují „skok“ – nespojitost při koncentraci odpovídající CMC, tedy koncentraci, při které se v roztoku právě vytvoří micely (viz obrázek 2).



Obrázek 2: Experimentální závislost eigenmobility pomalého a rychlého aniontového píku na koncentraci LiDS presentovaná v práci [15]. Pozice „skoku“ odpovídá hodnotě CMC.

Výhodou této metody je, že umožňuje určení CMC volných micel, na rozdíl od jiných metod, které určují CMC micel obsahujících v sobě uzavřené solubilizované jiné částice a při jejichž použití je získaná hodnota CMC silně ovlivněna druhem solubilizované částice díky vlivu hydrofobních, iontových interakcí a vodíkových vazeb mezi touto částicí a surfaktantem na proces micelizace [16]. Další výhodou je, že CMC odpovídá skokové změně sledované veličiny (nikoli například pouze změně směrnice závislosti, jak je tomu například při využívání vodivostních měření).

2 Cíle práce

Program PeakMaster vyvinutý naší skupinou [2,7] je schopen simulovat výsledky elektroforetických experimentů a umožňuje zároveň optimalizaci experimentálních podmínek především kapilární zónové elektroforézy. S jeho pomocí je možné studovat i teoretické pozadí jevů vyskytujících se při separacích prováděných kapilární zónovou elektroforézou.

Ačkoli u systémů obsahujících pouze nízkomolekulární látky se předpovědi programu PeakMaster velmi dobře shodují s experimenty, v případě anionických micelárních systémů se výsledky simulací a experimentů liší především v mobilitách systémových píků v systémech s nadkritickou micelární koncentrací. Naše hypotéza předpokládá, že tento nesoulad je způsoben tím, že v roztoku dochází k iontovému párování mezi kationty přítomnými v roztoku a micelou, což ovlivňuje efektivní mobility kationtů. Jak naznačuje práce Junwirtha [17], interakce mezi kationtem a anionem závisí i na velikosti kationtu, lze tedy předpokládat, že při párování kationtů s micelou bude míra interakce různá pro různé kationty alkalických kovů.

Cílem této práce je

- (1) Sledovat efektivní mobilitu kationtů sodného, draselného, cesného a kationtu Tris(hydroxymethyl)aminomethanu (Tris) v roztocích s různou koncentrací dodecylsulfátu lithného a změřit závislost mobility na koncentraci dodecylsulfátu.
- (2) Určit směrnici závislosti efektivní mobility kationtů alkalických kovů na koncentraci dodecylsulfátu při nadmicelárních koncentracích surfaktantu.

3 Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

Dodecylsulfát litný (LiDS) – Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Monohydrát hydroxidu lithého (LiOH * H₂O) – Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Morfolinopropansulfonová kyselina (MOPS) – Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Imidazol – Fluka, Buchs, Švýcarsko

Thiomočovina – Fluka, Buchs, Švýcarsko

Chlorid cesný – Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Chlorid draselný – Lachema, Brno, Česká republika

Chlorid sodný – Lachema, Brno, Česká republika

Tris(hydroxymethyl)aminomethan – Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo

Pro přípravu a ředění roztoků a k promývání kapiláry byla použita deionizovaná voda čištěná systémem Ultrapur a Rowapur (Watrex, San Francisco, USA).

3.2 Instrumentace

Experimenty byly provedeny na přístroji ^{3D}CE pro kapilární elektroforézu (Agilent Technologies, Německo) s vestavěným UV/VIS spektrofotometrickým detektorem s diodovým polem (Diod Array Detector, DAD), k ovládání aparatury a sběru dat sloužil program ChemStation, Agilent Technologies.

Parametry experimentů

dávkování vzorku: přetlakem 10 mbar po 15 s

aplikované napětí: 15 kV

sledované vlnové délky: 238 nm, 214 nm, 245 nm

počet opakování experimentu: 3 až 5

Parametry kapiláry:

výrobce: CaCo, Bratislava, Slovenská republika

vnitřní průměr: 50 μm

celková délka kapiláry: 48,1 cm

délka kapiláry k detektoru: 39,6 cm

Byla použita kapilára s vnitřním povrchem pokrytým nekovalentně adsorbovaným Polybrenem a následně nekovalentně adsorbovaným dextran sulfátem [15] a to pro dosažení stabilního EOF. Při poklesu EOF po provedení části měření (patrně v důsledku opotřebení pokrytí kapiláry) byla kapilára promyta 20 minut 5 % (hmotnostní procenta) roztokem Polybrenu (Hexadimetrim bromid - Fluka, Buchs, Švýcarsko) a následně bylo aplikováno napětí 3 kV po 20 minut při použití téhož roztoku Polybrenu, poté byla kapilára propláchnuta vodou 6 minut.

Před začátkem měření byla kapilára propláchnuta minimálně tři minuty vodou a poté tři minuty základním elektrolytem. Při změně základního elektrolytu byla kapilára propláchnuta tři minuty vodou a poté tři minuty základním elektrolytem. Základním elektrolytem byla kapilára propláchnuta po dobu tři minut i před každým jednotlivým experimentem. Po ukončení měření byla kapilára propláchnuta minimálně pět minut vodou a poté minimálně tři minuty vzduchem. Kapilára byla uchovávána naplněná vzduchem mezi jednotlivými měřeními.

Detekce

Byla použita nepřímá detekce. Při vlnové délce 214 nm absorbuje imidazol, jedna ze složek použitých základních elektrolytů, při této vlnové délce tedy byly pozorovány jak píky analytů tak systémové píky. Při vlnových délkách 238 nm a 245 nm absorbovala pouze thiomočovina, součást dávkovaných vzorků, při těchto vlnových délkách tedy elektroferogramy obsahovaly pouze jeden pík, který sloužil k určení mobility EOF.

3.3 Vyhodnocování dat

Data byla zpracovávána v programu Origin 6.1. Při vyhodnocování byly píky prokládány Haarhoffovou – Van der Lindeho funkcí (HVL), protože byly deformovány elektromigrační disperzí a neměly gaussovský tvar. Jejich proložení HVL funkcí umožňovalo přesnější určení jejich polohy [18].

3.4 Základní elektrolyty

Složení použitých základních elektrolytů je uvedeno v tabulce 1. Jednotlivé základní elektrolyty se lišily koncentrací dodecylsulfátu. Koncentrace lithného kationtu byla ve všech základních elektrolytech stejná, stejně tak měly všechny základní elektrolyty přibližně stejnou hodnotu pH a iontové síly (pH = 7,2; $I = 15,2$ mM; spočteno pomocí programu PeakMaster). Ve všech základních elektrolytech byla stejná i koncentrace imidazolu, jehož přítomnost umožňovala použití nepřímé UV detekce.

Tabulka 1: Složení základních elektrolytů.

elektrolyt	$c(\text{LiDS})$ /mM	$c(\text{LiOH})$ /mM	$c(\text{MOPS})$ /mM	$c(\text{Imidazol})$ /mM
BGE10	1,0	9,0	28,0	10,0
BGE20	2,0	8,0	26,0	10,0
BGE29	2,9	7,1	24,2	10,0
BGE31	3,1	6,9	23,8	10,0
BGE33	3,3	6,7	23,4	10,0
BGE35	3,5	6,5	23,0	10,0
BGE40	4,0	6,0	22,0	10,0
BGE45	4,5	5,5	21,0	10,0
BGE50	5,0	5,0	20,0	10,0
BGE60	6,0	4,0	18,0	10,0
BGE70	7,0	3,0	16,0	10,0
BGE80	8,0	2,0	14,0	10,0
BGE90	9,0	1,0	12,0	10,0
BGE100	10,0	0,0	10,0	10,0

Základní elektrolyty byly před použitím filtrovány přes laboratorní filtry o průměru pórů 0,45 μm (Minisart, Sartorius, Gottingen, Německo) a používány do druhého dne od přípravy.

Protože se základní elektrolyty skládaly ze čtyř složek, vznikaly při elektroforéze čtyři systémové zóny a rovněž PeakMaster předpovídal výskyt čtyř systémových píků: a) kationtový systémový pík s kladnou eigenmobilitou, b) nulový systémový pík, c) pomalý aniontový pík, jehož eigenmobilita je záporná, ale velmi blízká nule při koncentracích LiDS nižší než CMC a záporná při koncentracích nad CMC, d) rychlý aniontový pík se zápornou eigenmobilitou.

3.5 Vzorky

V každém základním elektrolytu byla provedena měření s těmito vzorky:

- 1) vzorkem obsahujícím chlorid cesný, chlorid sodný a Tris
- 2) vzorkem obsahujícím chlorid draselný a Tris
- 3) vzorkem obsahujícím pouze složky základního elektrolytu.

V základních elektrolytech s koncentrací LiDS 1 mM (pod CMC) a 7 mM (nad CMC) byla navíc provedena i měření se vzorky obsahujícími kromě složek základního elektrolytu:

- 4) pouze chlorid cesný
- 5) pouze chlorid draselný
- 6) pouze chlorid sodný
- 7) pouze Tris

(Tato měření sloužila k identifikaci píků jednotlivých kationtů, viz dále.)

Ve všech vzorcích byly koncentrace LiDS, LiOH a imidazolu vždy stejné jako v daném základním elektrolytu. Ve vzorcích o nižší koncentraci LiDS a ve vzorcích obsahujících pouze složky základního elektrolytu byla koncentrace MOPS mírně nižší než v příslušném základním elektrolytu (aby se vytvořil pomalý aniontový pík s dostatečně velkou a kladnou amplitudou). Koncentrace MOPS v ostatních vzorcích byla stejná jako v daném základním elektrolytu.

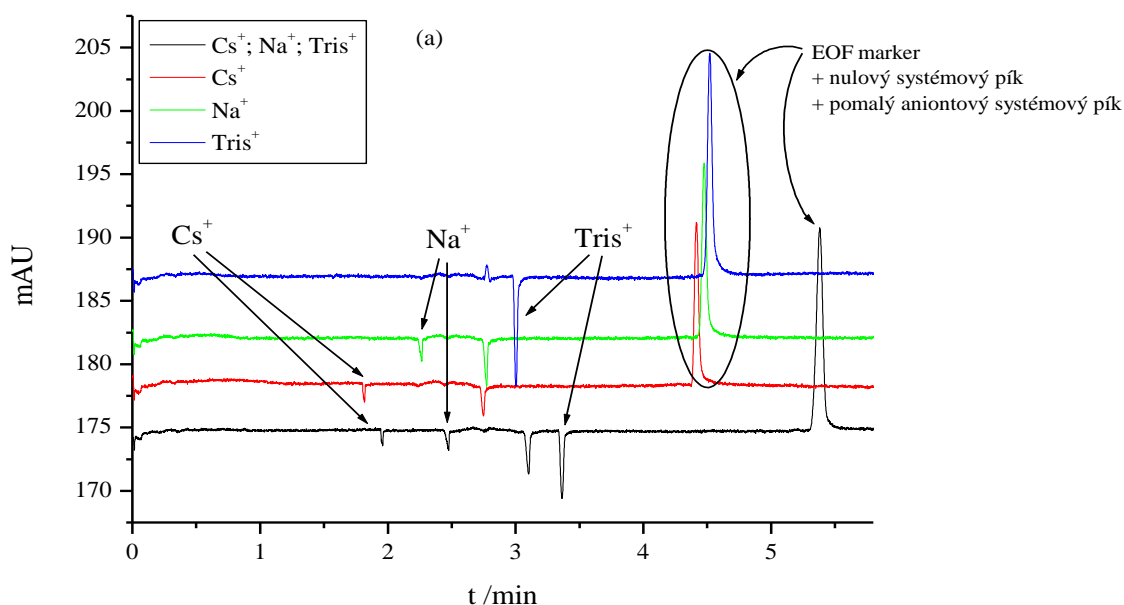
Všechny vzorky také obsahovaly thiomocovinu jako marker elektroosmotického toku.

4 Výsledky a diskuse

Byla sledována mobilita kationtů cesného, draselného, sodného a kationtu Tris a systémová eigenmobilita pomalého systémového aniontového píku v závislosti na koncentraci dodecylsulfátu v základním elektrolytu.

4.1 Identifikace píků

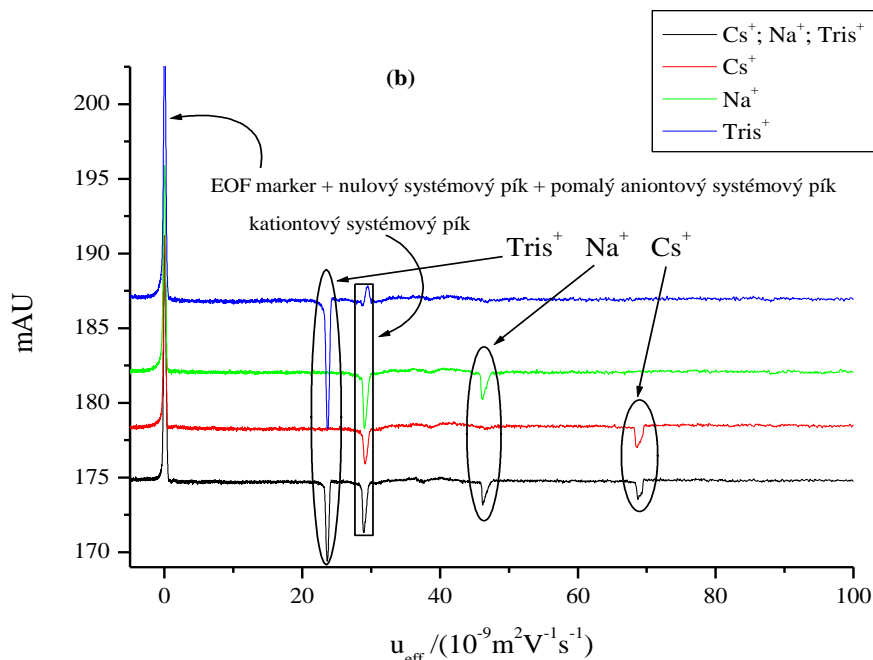
Elektroferogramy měření, při kterých byl ve vzorku přítomen kromě složek základního elektrolytu pouze jeden kation, byly porovnány s elektroferogramy měření provedených ve stejném základním elektrolytu, ale s kationty dávkovanými společně v jednom vzorku.



Obrázek 3: Ukázka identifikace píků Cs⁺, Na⁺, Tris⁺; elektroferogramy měření se samostatně a společně dávkovanými kationty (základní elektrolyt BGE10, vlnová délka 214 nm; pro větší přehlednost byly hodnoty absorbancí jednotlivých měření vůči sobě posunuty).

V důsledku rozdílů v rychlosti EOF mezi jednotlivými měřeními nebylo možné identifikovat jednotlivé píky čistě na základě porovnání migračních časů (obrázek 3, měření se liší migračními časy EOF markeru). Přepočtením časové osy elektroferogramu

na hodnoty mobility podle rovnic (3) a (4) se tento vliv eliminoval (obrázek 4). Porovnáním mobilit pak bylo určeno, které píky příslušely jednotlivým kationtům.



Obrázek 4: Ukázka identifikace píků Cs⁺, Na⁺, Tris⁺; elektroferogramy měření se samostatně a společně dávkovanými kationty s časovou osou přepočtenou na mobilitu (základní elektrolyt BGE10, vlnová délka 214 nm; pro větší přehlednost byly hodnoty absorbancí jednotlivých měření vůči sobě posunuty).

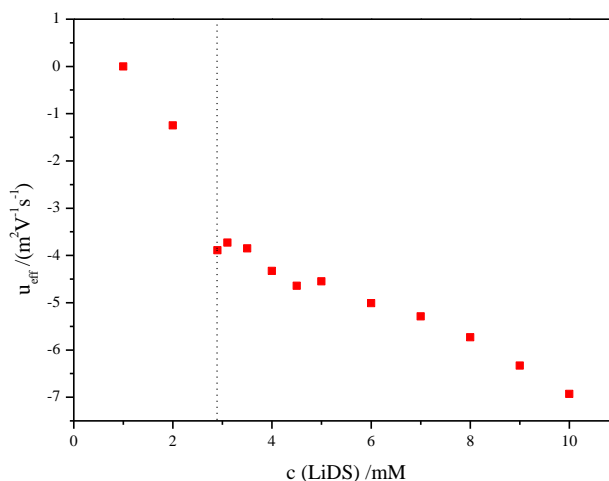
4.2 Určení CMC

Pro určení CMC dodecylsulfátu byla použita metoda popsaná v práci [15], byla sledována eigenmobilita pomalého aniontového systémového píku v závislosti na koncentraci dodecylsulfátu v použitém základním elektrolytu. Pro určení CMC byl zvolen pomalý aniontový systémový pík, přestože závislost eigenmobility rychlého aniontového systémového píku na koncentraci detergentu vykazuje při CMC větší a zjevnější „skok“ (viz obrázek 2). Program PeakMaster ale předpovídal, že při zpomalení EOF, respektive nárůstu migračního času EOF markeru na cca 5 až 5,5 minut, by se za daných experimentálních podmínek v důsledku příliš pomalé elektroosmózy migrační časy rychlého aniontového systémového píku pohybovaly při nadmicelárních koncentracích kolem 40 až 160 minut. To by jednak prodlužovalo dobu potřebnou k provedení experimentu a především by bylo obtížné tento pík vůbec zachytit. Pro generování rychlého aniontového píku s kladnou a dostatečně velkou amplitudou by také

bylo třeba dávkovat vzorek o koncentraci dodecylsulfátu mírně nižší, než byla jeho koncentrace v příslušném základním elektrolytu [15]. Protože cílem této práce bylo sledovat interakce kationtů s micelami, bylo vhodnější používat vzorky o stejné koncentraci surfaktantu jako v základním elektrolytu. Z těchto důvodů byl pro určení CMC použit pomalý aniontový systémový pík.

Tabulka 2: Průměrné efektivní eigenmobility pomalého aniontového systémového píku v jednotlivých základních elektrolytech.

základní elektrolyt	$c(\text{LiDS})$ /mM	u_{eff} /($10^{-9} \text{ m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$)
BGE10	1,0	0,00
BGE20	2,0	-1,25
BGE29	2,9	-3,89
BGE31	3,1	-3,73
BGE35	3,5	-3,85
BGE40	4,0	-4,33
BGE45	4,5	-4,64
BGE50	5,0	-4,55
BGE60	6,0	-5,01
BGE70	7,0	-5,29
BGE80	8,0	-5,73
BGE90	9,0	-6,33
BGE100	10,0	-6,93

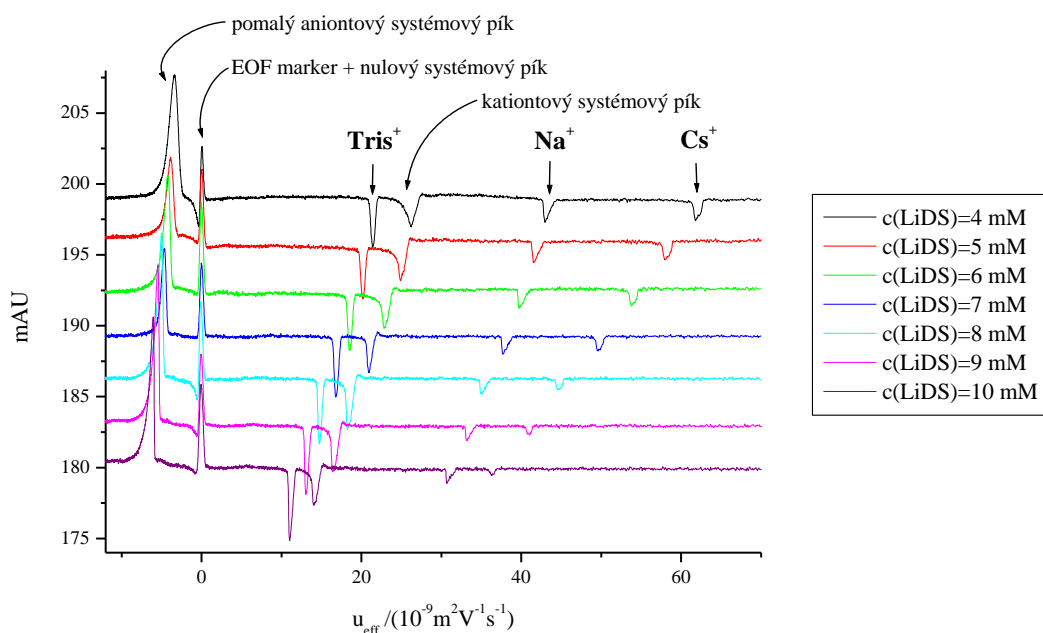


Obrázek 5: Závislost eigenmobility pomalého aniontového systémového píku na koncentraci dodecylsulfátu v použitém základním elektrolytu, přerušovanou čárou je vyznačena poloha „skoku“ závislosti a odpovídá koncentraci 2,9 mM.

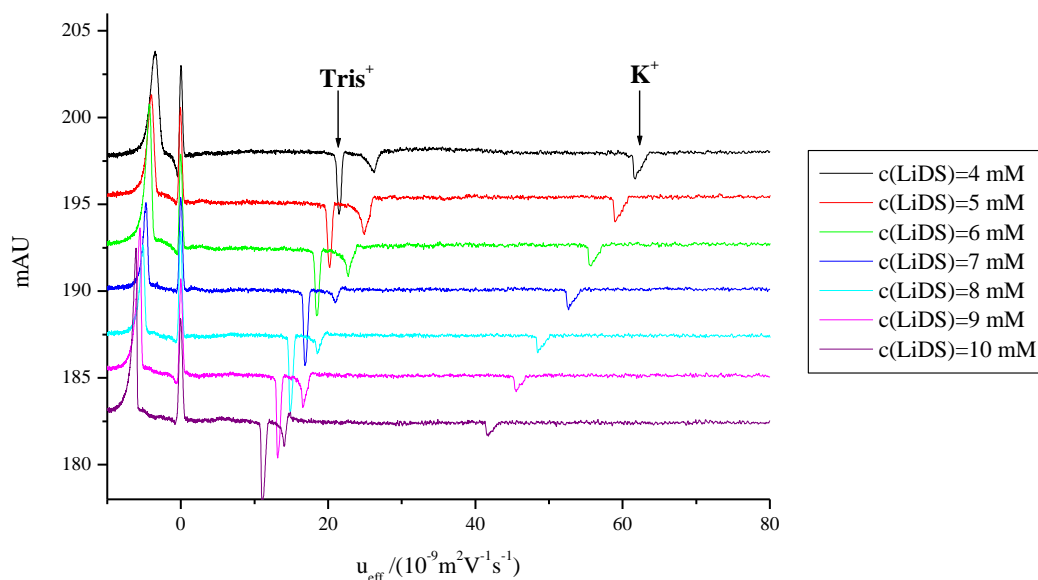
Hodnoty efektivních eigenmobilit pomalého systémového píku získaných při měřeních s použitím jednoho základního elektrolytu byly zprůměrovány, jsou uvedeny v tabulce 2 a v grafu na obrázku 5 vyneseny proti koncentraci dodecylsulfátu v použitém základním elektrolytu. Protože v okolí CMC nebylo získáno dostatečné množství experimentálních hodnot, není možné na základě získaných dat určit přímo hodnotu CMC, ale je možné konstatovat, že ležela v intervalu 2,0 až 2,9 mM včetně a že tedy v základních elektrolytech o koncentracích 2,9 mM dodecylsulfátu a vyšších byly přítomny micely.

4.3 Mobility kationtů

Cílem této práce bylo zjistit, zda mobility kationtů vykazují závislost na koncentraci detergentu tvořícího micely v základním elektrolytu a zda jsou směrnice těchto závislostí různé pro různé kationty. Na obrázcích 6 a 7 je patrné, že mobility kationtů s rostoucí koncentrací dodecylsulfátu při nadmicelárních koncentracích skutečně klesají a to s různými směrnici. Hodnoty efektivních mobilit kationtů získaných při měřeních s použitím jednoho základního elektrolytu byly zprůměrovány a jsou uvedeny v tabulce 3.



Obrázek 6: Elektroferogramy měření se vzorky obsahujícími kationty Cs^+ , Na^+ a Tris^+ při různých koncentracích LiDS v BGE; časová osa přepočtena na efektivní mobilitu; vlnová délka 214 nm, hodnoty absorbancí jednotlivých měření vůči sobě posunuty.



Obrázek 7: Elektroferogramy měření se vzorky obsahujícími kationty K^+ a $Tris^+$ při různých koncentracích LiDS v BGE; časová osa přepočtena na efektivní mobilitu; vlnová délka 214 nm, hodnoty absorpance jednotlivých měření vůči sobě posunuty.

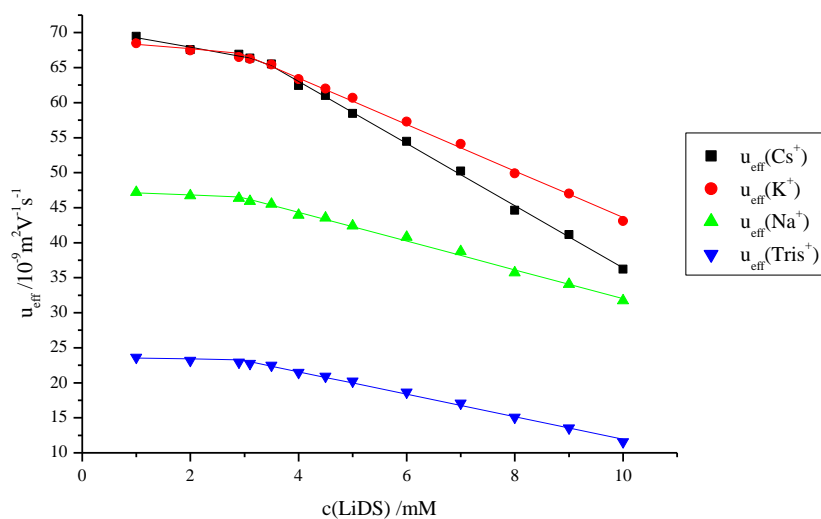
Tabulka 3: Průměrné efektivní mobility kationtů v jednotlivých základních elektrolytech.

základní elektrolyt	$c(LiDS)$ /mM	$u_{eff}(Cs^+)$ /($10^{-9} m^2 V^{-1} s^{-1}$)	$u_{eff}(K^+)$ /($10^{-9} m^2 V^{-1} s^{-1}$)	$u_{eff}(Na^+)$ /($10^{-9} m^2 V^{-1} s^{-1}$)	$u_{eff}(Tris^+)$ /($10^{-9} m^2 V^{-1} s^{-1}$)
BGE10	1,0	69,5	68,5	47,2	23,6
BGE20	2,0	67,6	67,4	46,7	23,2
BGE29	2,9	66,9	66,5	46,3	23,0
BGE31	3,1	66,3	66,2	45,9	22,8
BGE35	3,5	65,5	65,4	45,5	22,5
BGE40	4,0	62,5	63,3	43,9	21,5
BGE45	4,5	61,0	62,0	43,5	20,9
BGE50	5,0	58,4	60,7	42,4	20,2
BGE60	6,0	54,5	57,3	40,8	18,7
BGE70	7,0	50,2	54,1	38,7	17,1
BGE80	8,0	44,6	49,9	35,7	15,1
BGE90	9,0	41,2	47,0	34,1	13,5
BGE100	10,0	36,2	43,1	31,7	11,6

V principu není možné zcela jednoznačně posoudit, zda byl pokles mobilit skutečně způsoben iontovým párováním kationtů s micelou, nebo vlivem iontové síly. Pro všechny použité BGE sice program PeakMaster předpovídá přibližně stejnou iontovou sílu, ale její určení pro roztoky obsahující micely není jednoznačné (viz Úvod). Nicméně za předpokladu, že model publikovaný v práci Shankse a Fransese [9] popisuje příspěvek

micel k iontové síle lépe než model používaný programem PeakMaster, pak by v použitých BGE obsahujících micely iontová síla s rostoucí koncentrací LiDS spíše klesala a nemohla by tedy způsobit pozorovanou závislost.

Experimentálně získané body závislosti mobilit kationtů na koncentraci surfaktantu byly proloženy funkcí popsanou v práci [15], skládající se ze dvou plynule spojených polopřímek. Parametry této funkce jsou směrnice první a druhé polopřímky k_1 a k_2 , úsek vytnutý na ose y první polopřímkou q_1 , x souřadnice bodu dotyku obou polopřímek P (odpovídá CMC) a s je parametr určující míru „rozmytí“ čili povlovnosti přechodu mezi oběma polopřímkami. Hledanou směrnici závislosti mobility kationtů na koncentraci detergentu v nadmicelární koncentraci je tedy parametr k_2 . Při interpolování experimentálních bodů touto funkcí byl parametr P fixován na hodnotě 2,9 mM a parametr s na hodnotě 0,1 (obrázek 8, tabulka 4).



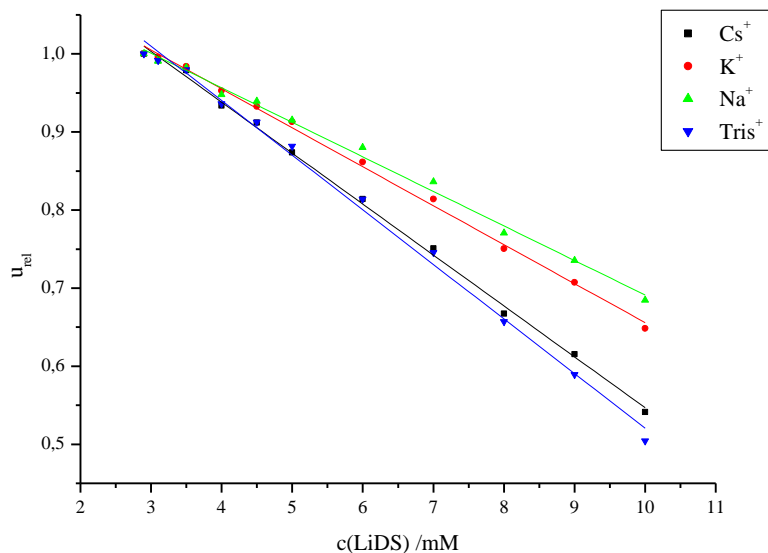
Obrázek 8: Závislosti průměrných efektivních mobilit kationtů na koncentraci detergentu; experimentální body a jimi proložená funkce složená ze dvou plynule navazujících polopřímek, hodnota P fixována na 2,9 mM a s na 0,1.

Tabulka 4: Parametry k_2 a q_1 funkce proložené experimentálními body závislosti mobilit kationtů na koncentraci surfaktantu s fixovanými parametry $P = 2,9$ mM, $s = 0,1$; mobility kationtů $u(0)$ předpovězené programem PeakMaster pro nulovou koncentraci surfaktantu.

kation	k_2 / $(10^{-9} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1})/\text{mM}$	q_1 / $(10^{-9} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1})$	$u(0)$ / $(10^{-9} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1})$
Cs^+	-4,44	70,0	74,2
K^+	-3,32	68,9	70,5
Na^+	-2,05	47,4	47,3
Tris^+	-1,60	23,6	23,2

Pro porovnání míry interakce jednotlivých kationtů s micelou je smysluplnější porovnávat relativní (procentuální) pokles mobility než pokles absolutní. O relativním poklesu mobility vypovídá relativní směrnice, tedy hodnota směrnice vydělená původní mobilitou. Nebo je možné vynést v závislosti na koncentraci surfaktantu přímo relativní mobilitu, poměr původní a aktuální mobility.

Na obrázku 9 je znázorněna závislost relativních mobilit u_{rel} (mobilit vydělených hodnotou mobility kationtu při koncentraci dodecylsulfátu 2,9 mM) na koncentraci detergentu, experimentální body byly interpolovány přímkami, jejichž směrnice k jsou uvedeny v tabulce 5.



Obrázek 9: Závislosti relativních mobilit kationtů na koncentraci dodecylsulfátu proložené lineární závislostí.

V tabulce 5 jsou uvedeny hodnoty směrnic k_2 po vydělení jednak mobilitou kationtu $u(0)$ (uvedena v tabulce 4), kterou předpovídá Peakmaster pro dané experimentální podmínky

a nulovou koncentrací surfaktantu, a také příslušnou hodnotou parametru q_1 , která má také význam mobility kationtu při nulové koncentraci surfaktantu, a dále směrnice k závislosti relativních mobilit na koncentraci LiDS.

Tabulka 5: Relativní směrnice závislosti mobilit kationtů na koncentraci LiDS.

kation	$k_2(a)/u(0)$ /mM ⁻¹	$k_2(a)/q_1(a)$ /mM ⁻¹	k /mM ⁻¹
Cs ⁺	-0.0599	-0.0635	-0.0652
K ⁺	-0.0471	-0.0481	-0.0499
Na ⁺	-0.0434	-0.0433	-0.0443
Tris ⁺	-0.0691	-0.0678	-0.0699

Ačkoli se hodnoty relativních směrnic pro jeden kation od sebe liší v závislosti na způsobu výpočtu, v rámci jednoho způsobu výpočtu klesají hodnoty pro jednotlivé kationty vždy ve stejném pořadí Tris⁺ > Cs⁺ > K⁺ > Na⁺. To by mělo odpovídat poklesu míry interakce kationtu s micelou ve stejném trendu. Organický kation Tris⁺ má jiný charakter než ostatní sledované ionty a v jeho případě se pravděpodobně uplatňují ještě jiné druhy interakcí s micelou než u ostatních sledovaných kationtů. Vzárust interakce s rostoucím atomovým číslem pro kationty alkalických kovů odpovídá výsledkům získaným jinými měřeními a publikovaným v pracích [8,12,13].

5 Závěr

Byly sledovány mobility kationtů cesného, draselného, sodného a Tris a eigenmobilita pomalého aniontového systémového píku v BGE o různých koncentracích dodecylsulfátu lithého.

Ze závislosti eigenmobility sledovaného systémového píku na koncentraci dodesylsulfátu bylo určeno, ve kterých BGE se vyskytovaly micely. Při nadmicelárních koncentracích surfaktantu mobility sledovaných kationtů klesaly s jeho rostoucí koncentrací. Zjištěné závislosti se jevily jako lineární a jejich směrnice se lišily pro různé kationty. Na základě porovnání relativních směrnic (směrnic vztažených na původní hodnotu mobility) byly sledované alkalické kationty seřazeny podle míry jejich interakce s micelou, nejsilněji interagoval kation cesný, méně draselný a nejslaběji sodný. Pozorovaný trend interakce, rostoucí s rostoucí hodnotou atomového čísla alkalického kationtu, se shoduje s dříve publikovanými výsledky experimentů sledujících interakci alkalických kationtů s dodecylsulfátovou micelou jinými metodami a odpovídá předpokladu, že míra interakce klesá s rostoucím hydrodynamickým poloměrem kationtu.

Získání parametrů pozorované interakce, například rovnovážné konstanty pro tvorbu iontového páru mezi kationtem a micelou, bude umožňovat implementaci dalších interakčních mechanismů do stávajícího modelu elektromigrace použitého v programu PeakMaster a tím zvětší i jeho vypovídací a simulační schopnost.

Reference

- ¹ Muijsallaar W. G. H. M.; *Micellar electrokinetic chromatography – fundamentals and applications*, Eindhoven University of Technology, 1996 Eindhoven
- ² Gaš B., Jaroš M., Hruška V., Zusková I., Štědrý M.; PeakMaster – A Freeware Simulator of Capillary Zone Electrophoresis; *LC GC Europe* 2005, 18, 282-288
- ³ Atkins P. W., *Fyzikálna chémia*, STU, 1999 Bratislava
- ⁴ Brdička Rudolf; *Základy fyzikální chemie*, Přírodovědecké vydavatelství, 1952 Praha
- ⁵ Koval D., Kašička V., Zusková I., Investigation of effect of ionic strength of Tris-acetate background electrolyte on electrophoretic mobilities of mono-, di-, and trivalent organic anions by capillary electrophoresis; *Electrophoresis* 2005, 26, 3221-3231
- ⁶ Jaroš M., Včeláková K., Zusková I., Gaš B.; Optimalization of background electrolytes for capillary electrophoresis: II. Computer simulation and comparison with experiments; *Electrophoresis* 2002, 23, 2667-2677
- ⁷ <http://www.natur.cuni.cz/~gas/> [staženo dne 20. 5. 2009]
- ⁸ Joshi J. V., Aswal V. K., Bahadur P., Goyal P. S.; Role of counterion of the surfactant molecule on the micellar structure in aqueous solution; *Curr. Sci.* 2002, 83, 47-49
- ⁹ Shanks P. C., Frances E. I.; Estimation of Micellization Parameters of Aqueous Sodium Dodecyl Sulfate from Conductivity Data; *J. Phys. Chem.* 1992, 96, 1794-1805
- ¹⁰ Gaš B., Hruška V., Dittmann M., Bek F., Witt K.; Prediction and understanding system peaks in capillary zone electrophoresis; *J. Sep. Sci.* 2007, 30, 1435-1445
- ¹¹ Terabe S., Otsuka K., Ando T.; Electrokinetic Chromatography with Micellar Solution and Open-Tubular Capillary; *Anal. Chem.* 1985, 57, 834-841
- ¹² Ahuja E. S., Foley J. P., Influence of Dodecyl Sulfate Counterion On Efficiency, Selectivity, Retention, Elution Range, and Resolution in Micellar Electrokinetic Chromatography; *Anal. Chem.* 1995, 67, 2315-2324
- ¹³ McLaren D. G., Boulat O., Chen D. D. Y.; Univalent salts as modifiers in micellar capillary electrophoresis; *Electrophoresis* 2002, 23, 1912-1920
- ¹⁴ Štědrý M., Jaroš M., Hruška V., Gaš B.; Eigenmobilities in background electrolytes for capillary zone electrophoresis: III Linear theory of electromigration; *Electrophoresis* 2004, 25, 3071-3079

¹⁵ Lokajová J., Hruška V., Tesařová E., Gaš B.; System peaks in micellar electrophoresis: I. Utilization of system peaks for determination of critical micelle concentration, *Electrophoresis* 2008, 29, 1189-1195

¹⁶ Lin C. E., Fang I. J., Deng Y. J., Liao W. S., Cheng H. T., Huang W. P.; Capillary electrophoretic studies on the migration behavior of cationic solutes and the influence of interactions of cationic solutes with sodium dodecyl sulfate on the formation of micelles and critical micelle concentration; *J. Chromatogr. A* 2004, 1051, 85-94

¹⁷ Jungwirth P., Jagoda-Cwiklik B., Vácha R., Lund M., Srebro M.; Ion Pairing as a Possible Clue for Discriminating between Sodium and Potassium in Biological and Other Complex Environments; *J. Phys. Chem. B* 2007, 111, 14077-14079

¹⁸ Erny G. L., Bergstöm E. T., Goodall D. M.; Predicting Peak Shape in Capillary Zone Electrophoresis: a Generic Approach to Parametrizing Peaks Using the Haarhoff-Van der Linde (HVL) Function; *Anal. Chem.* 2001, 73, 4862-4872