

КОМПЛЕКСНІ СПОЛУКИ В КАПІЛЯРНО-ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНИХ МЕТОДАХ (огляд)

Досліджено використання комплексоутворення в капілярно-електрофоретичних методах. Проаналізовано фактори, які впливають на розділення речовин при комплексоутворенні.

Вступ

За останні 20 років широкого поширення за кордоном набуло використання капілярно-електрофоретичних методів для аналізу катіонів металів, органічних речовин та макромолекул за допомогою комплексоутворення. Використання комплексоутворення у цих методах було вперше застосовано для розділення і визначення ДНК, оскільки це має велике значення для судової медицини, біотехнології, фармацевтики, генетики, мікробіології, вірусології тощо [1, 2]. На сьогодні вже розроблено багато методик для визначення неорганічних катіонів у природних зразках: воді, ґрунті, повітрі, рудах тощо, що має практичне значення для хіміків-аналітиків [3, 4, 5, 6, 7]. Нині розвивається новий напрям досліджень, а саме, визначення специфіки взаємодії біологічно активних речовин із цитоплазмою клітин та їх вплив на біологічні процеси [8].

Широкому розвитку цих методів сприяють такі переваги:

- висока ефективність розділення;
- швидке розділення (5–45 хв);
- автоматизація;
- одночасне розділення багатьох компонентів;
- кількісний аналіз;
- висока селективність;
- висока чутливість ($1 \cdot 10^{-7}$ моль/дм³) [9].

Для покращення селективності розділення та уможливлення детектування нині розробле-

но багато підходів, зокрема для досягнення цієї мети використовують різні типи комплексоутворюючих реагентів; зміну рН, концентрації ліганду, температури; модифікування стінок капіляра тощо, але залишається відкритим питання систематизації та класифікації цих підходів, що й стало поштовхом для написання цієї статті.

1. Типи комплексоутворювачів

Для коректування селективності у капілярно-електрофоретичних методах використовуються слабкі, середні та сильні комплексоутворюючі агенти. У табл. 1 [10] наведено дані про константи стійкості комплексів металів із різними лігандами. Слабкі комплексоутворюючі агенти, такі як, 2-гідрокси-4-метилбутанова (гідроксиізомасляна) кислота (ГІМК), додають до буферного розчину, щоб змінити рухливість катіонів. При цьому в розчині утворюються незаряджені комплекси MeL [11]. Комплексоутворення двозарядних катіонів із середнім за силою комплексоутворювачем, наприклад, з 8-гідроксидінолін-5-сульфокислотою (ГХС⁻), відбувається стехіометрично і приводить до утворення комплексів MeL₂⁻ [12]. Більш сильні комплексоутворюючі агенти, наприклад, ЕДТА, утворюють комплекси з високими константами стійкості [13], що використовується для регулювання селективності в умовах неповного комплексоутворення.

Таблиця 1. Константи стійкості комплексів

Катіон	ГІМК			ГХС		ЕДТА
	log K ₁	log K ₂	log K ₃	log K ₁	log K ₂	log K ₃
Cu ²⁺	2,74	4,34	4,38	12,50	23,10	18,80
Zn ²⁺	1,72	3,01	3,40	8,40	15,10	16,50
Pb ²⁺	8,53	16,13	18,04
Ni ²⁺	1,67	2,80	2,84	10,00	18,10	18,62
Fe ²⁺	8,40	15,10	14,32
Fe ³⁺	11,60	22,80	25,10

Утворення комплексів із різною кількістю лігандів та з різними зарядами сприяє різній рухливості і, таким чином, селективності розділення.

2. Способи дериватизації при комплексоутворенні в капілярно-електрофоретичних методах

Дериватизація - це модифікація вихідних сполук для надання їм відповідних аналітичних властивостей; у капілярному електрофорезі переважають підвищення селективності розділення та чутливості детектування через комплексоутворення. Залежно від місця проведення комплексоутворення розрізняють прекапілярну, дериватизацію в капілярі та посткапілярну дериватизацію [3]. Вибір методу залежить від фізико-хімічних властивостей вихідних речовин, комплексоутворюючих агентів та аналітичних властивостей, що вимагаються. Для дериватизації йонів металів здебільшого використовують комплексоутворення з органічними лігандами.

Прекапілярна дериватизація - спосіб зміни селективності розділення за допомогою додавання комплексоутворюючого агенту перед введенням проби у капіляр. Перевагою цього методу є відносно вільний вибір умов (широкий діапазон температур і будь-яка тривалість реакції) та відсутність у разі необхідності додаткового складного устаткування. Недоліками є утворення побічних продуктів і погіршення чутливості детектування через розбавлення проби. Прекапілярна дериватизація неорганічних йонів із використанням сильних лігандів придатна для підвищення селективності розділення та дає змогу визначати речовини за допомогою УФ-детектування [14]. У досліджуваному розчині для ефективного розділення повинна встановлюватися рівновага між іоном металу, лігандом та сформованим комплексом, тому ліганд додають також у робочий електролітний розчин у невеликій кількості.

Метод дериватизації у капілярі передбачає введення вільної форми досліджуваної речовини у капіляр із подальшим додаванням комплексоутворюючого агенту до робочого електролітного розчину. Реакція комплексоутворення при цьому відбувається у самому капілярі, що зменшує розбавлення зразка до мінімуму. Ще однією перевагою методу є те, що процес модифікації проводиться без зміни установки капілярного електрофорезу. Але, попри позитивні особливості, дериватизація у капілярі має деякі обмеження. Реакція комплексоутворення має бути достатньо швидкою, що спричиняє до обмеження вибору комплексоутворюючих агентів, крім того, більшість використовуваних сполук у віль-

ній формі досягають піку при детектуванні або зменшують чутливість детектування. Тому для дериватизації у капілярі використовують сильні та середні ліганди, що за короткий строк утворюють стійкі комплекси з досліджуваними сполуками. Цей підхід застосовується також і для аналізу властивостей комплексів [14].

Метод посткапілярної дериватизації ґрунтується на додаванні комплексоутворювача після виходу проби з капіляра безпосередньо перед детектуванням і є найкращим вибором, коли реактив із комплексоутворювачем утворює різноманітні продукти або нестійкі похідні. Оскільки всі зміни вихідних сполук відбуваються після виходу з капіляра, процес розділення та процес аналітичного виявлення можуть бути оптимізованими незалежно один від одного. Для методу посткапілярної дериватизації використовують слабкі комплексоутворюючі реагенти. Процедура додавання реактиву повністю автоматизовано, але невеликий діаметр капіляра робить конструкцію системи детектування технічно важкою, що обмежує застосування цього принципу [14].

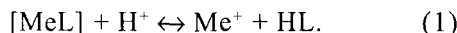
Зразки можуть вводитися у капіляр двома способами: електрокінетичним та гідродинамічним. Електрокінетична ін'єкція використовується, коли капіляр занурено в католіт одним кінцем та в аноліт (який містить зразок для аналізу) - іншим. При прикладанні напруги ЕОП рухається від аноду до катоду, ведучи за собою зразок у капіляр. Іони також починають рухатися в капіляр із буферного розчину за рахунок електрофоретичної рухливості. Цей спосіб має переваги для аналізу йонів у невеликих концентраціях. Ці ін'єкції зазвичай тривають упродовж 1-5 секунд. Гідродинамічна ін'єкція проводиться при прикладанні тиску чи вакууму до одного кінця капіляра. Різниця тисків на кінцях капіляра приводить до руху рідини у капіляр. Температура та в'язкість розчину має вагомий вплив при використанні обох способів ін'єкції, тому при введенні речовини у капіляр важливо керувати цими параметрами [9].

3. Фактори, які впливають на рівновагу комплексоутворення

Фактори, від яких залежить рівновага комплексоутворення, досліджувалися Вангом (*Wang*) [13], Конрадів (*Conradi*) [11], Чайрі (*Chiari*) [15], які встановили, що рН, концентрація та тип ліганду мають найбільш вагомий вплив у реакціях комплексоутворення у капілярно-електрофоретичних методах.

Вплив типу ліганду на комплексоутворення розглянуто вище.

Ліганди – це у більшості випадків кислотні залишки, тому при йонізації вони можуть взаємодіяти з іонами H^+ з утворенням слабких кислот:



Отже, концентрація ліганду впливає на рН так [11]:

$$[H^+] = \frac{K_d [Me^+] [HL]}{[MeL] \beta}, \quad (2)$$

де K_d – константа дисоціації комплексу; β – константа нестійкості комплексу; $[H^+]$ – концентрація іонів гідрогену; $[Me^+]$ – концентрація металу; $[HL]$ – концентрація утвореної слабкої кислоти; $[MeL]$ – концентрація комплексу.

Концентрація комплексу виражається:

$$[MeL] = C_s - [L^-], \quad (3)$$

де C_s – повна концентрація ліганду; $[L^-]$ – концентрація вільного ліганду після комплексоутворення.

Підставляючи рівняння (3) у рівняння (2), отримуємо:

$$[H^+] = \frac{K_d [Me^+]^2}{(C_s - [L^-]) \beta}. \quad (4)$$

Концентрація ліганду $[L^-]$ визначається таким чином [11]:

$$[L^{n-}] = \frac{C_s [H^+] \beta - K_d [Me^+]}{[H^+] \beta}. \quad (5)$$

Оскільки константа рівноваги $K_p = K_d / \beta$, ділимо обидві частини рівняння (5) на β й одержуємо таке рівняння:

$$[L^-] = \frac{C_s [H^+] - K_p [Me^+]^2}{[H^+]}. \quad (6)$$

звідки константа рівноваги дорівнює:

$$K_p = \frac{[H^+] (C_s - [L^-])}{[Me^+]^2}. \quad (7)$$

Як видно з рівняння (7), зі зміною рН та концентрації ліганду відповідно змінюється і константа рівноваги, у цьому випадку константа нестійкості. Ці ефекти пов'язані зі зміною електроосмотичного потоку (ЕОП): за високих значень рН додаткова дисоціація комплексу приводить до збільшення ЕОП, що, у свою чергу, збільшує аналітичну рухливість. На рис. 1 [15] показано залежність електрофоретичної рухливості комплексів ряду металів із ГІМК від рН. Зі зміною рН час міграції зменшується через підвищення ЕОП, отже, рН є також вагомим параметром рівноваги комплексоутворення.

Оскільки комплексоутворення сприяє кращому розділенню, то оптимальна концентрація

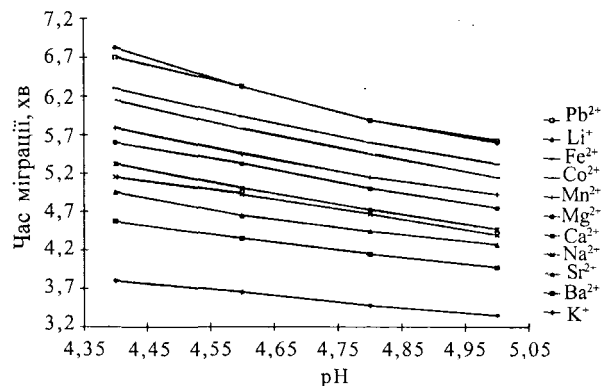


Рис. 1. Залежність рухливості комплексів металів від рН [15]

ліганду – це концентрація, за якої комплекси металів мають найвищу різницю рухливостей. Кількісно вплив концентрації ліганду оцінюють через ступінь комплексоутворення [11]:

$$n = \frac{\sum m \beta_m [L^-]^m}{1 + \sum m \beta_m [L^-]^m}, \quad (8)$$

де n – ступінь комплексоутворення; m – стехіометричний коефіцієнт; β – константа нестійкості; $[L^-]$ – концентрація ліганду, котре бере участь у комплексоутворенні.

Розділення комплексів є результатом відмінності середнього числа лігандів, що вступають у комплексоутворення, що залежить від констант комплексоутворення.

Концентрація ліганду також впливає на процес розділення. Як було зазначено вище, на рис. 2 показано залежність часу міграції групи лужних, лужноземельних і перехідних металів від концентрації ГІМК [15]. Ефект підвищення концентрації ліганду проявляється у випадку з перехідними металами, які більш ефективно розділяються за рахунок комплексоутворення при збільшенні концентрації 2-гідрокси-4-метилбутанової (гідроксиізомасляної) кислоти. Оскільки лужні метали не утворюють комплекси з ГІМК, збільшення часу міграції є результатом зменшення ЕОП

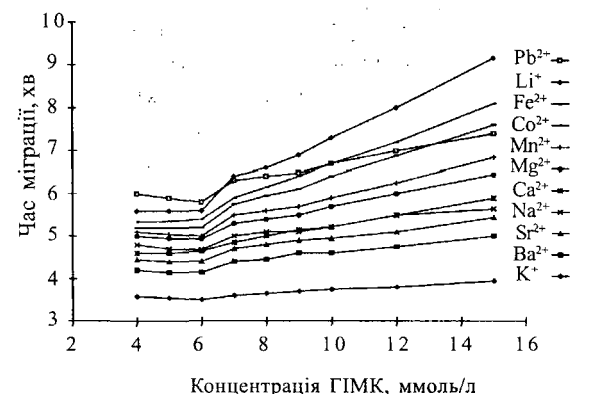


Рис. 2. Вплив концентрації ліганду на час міграції катіонів металів [15]

через вплив іонної сили, що змінюється при додаванні ПМК.

4. Використання комплексоутворення для розділення речовин, що аналізуються

Однією з проблем в аналізі неорганічних катіонів у капілярному електрофорезі є те, що деякі катіони мають однакову електрофоретичну рухливість через подібний розмір та ідентичність заряду (двовалентні перехідні метали та лантаноїди). Одним із підходів для зміни електрофоретичної рухливості катіонів металів є їх розділення у вигляді комплексів.

За допомогою комплексоутворення у капілярному електрофорезі можна розділити:

- неорганічні катіони;
- елементи у різних ступенях окиснення;
- органічні сполуки;
- енантіомери.

Для розділення неорганічних катіонів застосовують сильні, середні та слабкі комплексоутворюючі агенти. При додаванні слабких лігандів, таких, як етанова (оцтова), гідроксиетанова (гліколева) та 2-гідрокси-4-метилбутанова (гідроксизомасляна) кислоти, досягається розділення 6 катіонів K^+ , Ba^{2+} , Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} , Li^+ . Оптимальне розділення для кожної кислоти забезпечується тільки у певному інтервалі рН [16]. Ефект двохосновних кислот більш складний. Так, розділення 27 лужних, лужноземельних, перехідних металів та лантаноїдів із використанням 1,2-дигідроксибензилдикарбонової (фталевої) та 2,3-дигідроксибутандіоївої (винної) кислоти досягається за 6 хв при рН 4,5 [17]. Використання середніх комплексоутворюючих агентів є більш ефективним. Повне розділення суміші $Ca(II)$, $Mg(II)$ і $Zn(II)$ не досягається при додаванні слабких комплексоутворюючих агентів, тому використовують 8-гідроксигінолін-5-сульфо кислоту [18]. Альтернативний метод для розділення неорганічних катіонів у капілярному електрофорезі - це додавання сильних комплексоутворюючих агентів, які утворюють стійкі хелати. За рахунок додавання ЕДТА як комплексного агента досягається розділення 19 катіонів та аніонів за 6 хв [19]. Спеціальний механізм комплексоутворення - це формування включених комплексів за допомогою краунетерів. Цей метод використовують для розділення $K_7NH_4^+$ чи $Sr^{2+}Ba^{2+}$, оскільки стабільність утвореного комплексу залежить від діаметра катіону та порожнини. Розділення NH_4^+ та K^+ у суміші з іншими лужними та лужноземельними металами відбувається в електролітному розчині на основі солей купруму, який містить 18-краун-6 ефір [20]. Селективності розділення

$Mn(II)$, $Fe(II)$, $Co(II)$, $Ni(II)$, $Zn(II)$ можна досягти при зміні концентрації двох комплексних агентів: пропандіоївої (малонової) кислоти та 18-краун-6 ефіру [21].

За допомогою комплексоутворення також можна розділити елементи у різних ступенях окиснення. Уперше таким способом було розділено $Fe(II)$ і $Fe(III)$ за допомогою 4-(2-піридилазо)резорцинолу [12]. Нині розроблено багато методик для розділення катіонів металів у різних ступенях окиснення комплексоутворенням, основні умови розділення яких наведено у таблиці 2.

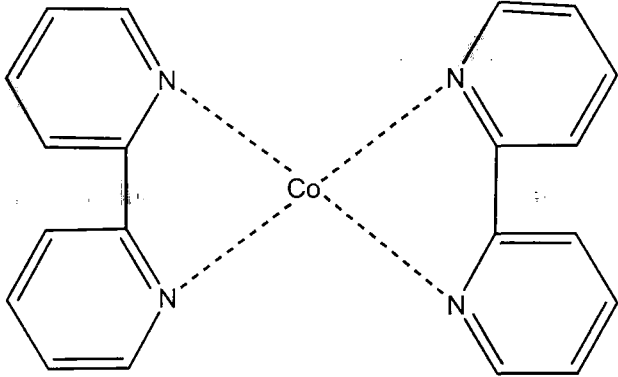
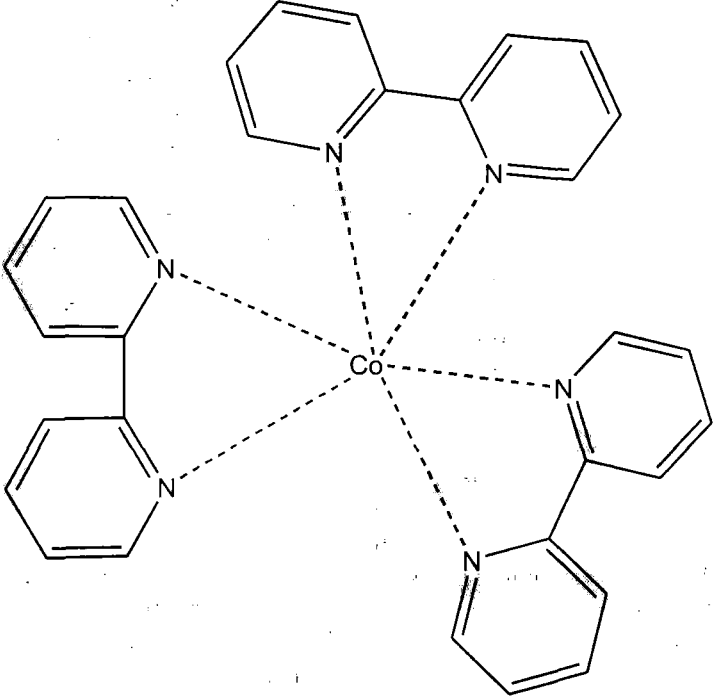
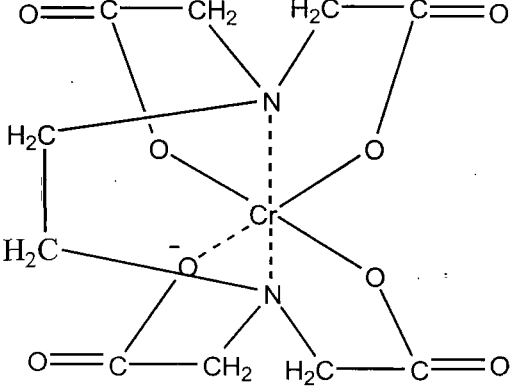
Розділення відбувається за рахунок утворення комплексів із різним числом лігандів, які мають різну електрофоретичну рухливість за рахунок різного заряду та маси.

Комплексоутворення у капілярному електрофорезі застосовується не тільки для покращення розділення неорганічних катіонів, а також для розділення органічних сполук. При додаванні катіонів металів як комплексоутворюючих агентів до буферного розчину, вони можуть сорбуватися на поверхні кварцу і знижувати ϵ -потенціал, тому для розділення застосовують МЕКХ. При цьому міцели створюють конкурентоспроможну поверхню для взаємодії з металами [28]. Використовуючи сульфат купруму (II) як комплексоутворюючий реагент, можемо провести швидкий аналіз миючих засобів [29]. Подібним способом можна розділити поліамінополікарбоксилати через формування комплексів [30]. Деякі металохромні ліганди (арценазо I, арценазо III, ксенон та хромазуrol S), які здатні формувати стійкі хелатні комплекси з металами, також можуть бути розділені за допомогою КЗЕ [31].

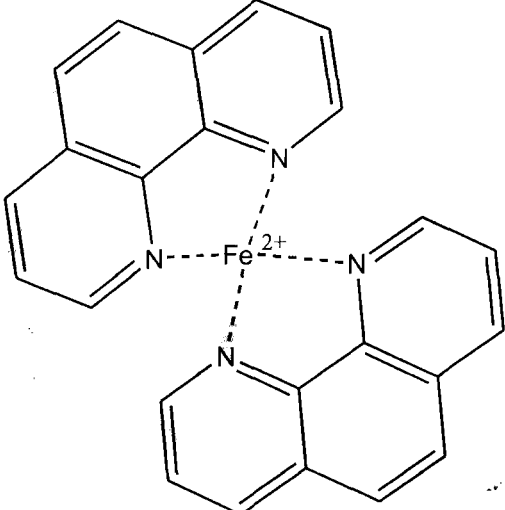
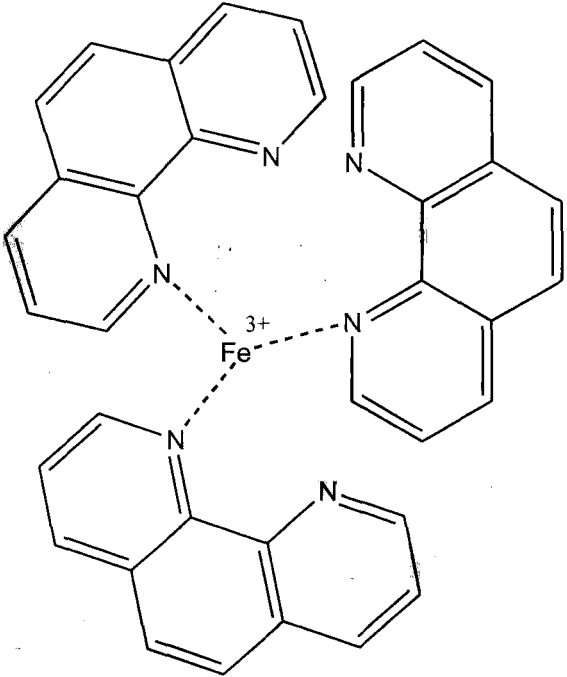
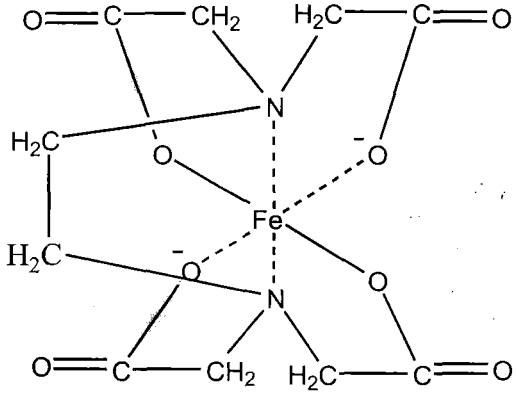
Комплексоутворення також використовують для розділення енантіомерів, а саме, рацемічної суміші амінокислот. Наприклад, розділення суміші L- і D-гістидину можливе за допомогою купруму (II) як комплексоутворюючого реагенту [32]. За допомогою додавання суміші катіонів можна розділити біополімери, що успішно було зроблено на прикладі дипептидів L-Ala-L-His та β -Ala-L-His із використанням $Zn(II)$ і $Ca(II)$ [33].

Отже, капілярний електрофорез дає багато можливостей для розділення іонів металів через комплексоутворення. Комплекси формуються в електролітному розчині на основі слабких донорних взаємодій, де метал виступає як акцептор, а органічний реагент - як донор. Найчастіше лігандами виступають моно-, дво- та триосновні органічні кислоти. Оптимальна концентрація ліганду залежить від константи стійкості комплексу та впливає на електрофоретичну рухливість. Рівновага комплексоутворення з катіонами

Таблиця 2. Умови розділення катіонів металів зі змінною валентністю

Катіон металу	Комплексоутворюючий агент	Комплекси, який утворюється	Посилання
Co (II)			[22]
Co (III)	2,2'-Дипіридин		
Cr (III)	ЕДТА		[23]
Cr (VI)		-	
Fe (II)	Ціанід	$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$	[24]
Fe (III)		$[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$	

Продовження таблиці 2

Катіон металу	Комплексоутворюючий агент	Комплекс, який утворюється	Посилання
Fe (II)			[25]
Fe (III)	o-Фенантролін		[26]
Fe (II)	ЕДТА		[27]

Продовження таблиці 2

Катіон металу	Комплексоутворюючий агент	Комплекс, який утворюється	Посилання
Fe (III)	ЕДТА		[28]

металів застосовується для оптимізації розділення органічних речовин.

5. Комплексоутворення як засіб, який дає змогу застосовувати УФ-детектування для виявлення речовин, що аналізуються

Для детектування у капілярно-електрофоретичних методах застосовують УФ-спектроскопію, флуоресценцію, амперметрію, кондуктометрію, потенціометрію та мас-спектроскопію [34]. Найбільш поширеним є пряме та непряме УФ-детектування, що зумовлено, в першу чергу, тим, що більшість капілярно-електрофоретичних приладів випускаються з вбудованими УФ-детекторами. Найбільшу проблему для детектування становлять неорганічні катіони, які не поглинають в УФ-області. Тому для уможливлення УФ-детектування неорганічних іонів використовують комплексоутворення з органічними лігандами, які є видимими в УФ-області.

У капілярному електрофорезі найширше застосування знайшли такі комплексоутворюючі реагенти, які у відновленій формі мають високу адсорбуючу здатність до заряджених іонів металів і утворюють стійкі комплекси. Використання комплексоутворюючого реагенту ні в якому разі не повинно приводити до втрати інформації через окисно-відновну та гідролітичну взаємодію, тому основною вимогою є утворення тільки одного виду комплексу. Для прямого детектування застосовують реагенти, які містять хромофорні групи. Найширше використовуються такі реагенти, як ЕДТА, імідазол, фталева кислота, 1,10-фенантролін, 4-амінопіридин, етилендіамін [35].

Виявлення лужноземельних і перехідних металів, а також лантаноїдів стає можливим у ви-

гляді комплексів із 4-амінопіридином. [5, 36]. Було досліджено, що за умов комплексоутворення на детектування впливає не тільки стійкість комплексу, але й довжина капіляра, температура та природа буферного розчину, який може виступати конкуруючим лігандом та погіршувати детектування [6].

6. Капілярний електрофорез як метод визначення константи стійкості комплексних сполук

Константу стійкості комплексу можна виміряти за допомогою різних експериментальних підходів, а саме, УФ-спектроскопії, калориметрії, потенціометрії та дослідження кінетики реакції комплексоутворення. Для більшості цих методів параметри системи вимірюються для різних концентрацій ліганду і постійних концентрацій субстрату. Параметри можуть бути пов'язані з відносними концентраціями зв'язаних і вільних іонів, фізичними властивостями, які притаманні комплексу та вільному йону (наприклад, коефіцієнт екстинкції у спектрофотометрії). Для електрофорезу рівняння, яке пов'язує константу стійкості з електрофоретичною рухливістю усіх компонентів розчину, має такий вигляд [37]:

$$K[L] = \frac{\mu_f - \mu_i}{\mu_i - \mu_c}, \quad (9)$$

де K – константа стійкості; $[L]$ – рівноважна концентрація ліганду, який не вступив у комплексоутворення; μ_f і μ_c – електрофоретичні рухливості вільного розчину катіону металу та комплексної сполуки; μ_i – рухливість розчину ліганду концентрацією L .

Отже, для того, щоб розрахувати константу стійкості комплексу за рівнянням (9), потрібно

безпосередньо вимірювати рухливість ліганду μ_i , що є неможливим для багатьох систем через солюбілізацію ліганду або взаємодію між лігандом та стінками капіляру. Тому для розрахунку величину μ_i виражають через величину μ_c таким чином [37]:

$$\mu_i = \frac{\mu_f + \mu_c K [L]}{1 + K [L]}, \quad (10)$$

$$\frac{[L]}{(\mu_i - \mu_f)} = \frac{1}{(\mu_c - \mu_f)} [L] + \frac{1}{(\mu_c - \mu_f) K}. \quad (11)$$

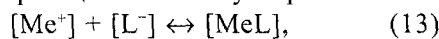
Рівняння (10), представлене у лінійній формі (11), пов'язує всі виміряні електрофоретичні рухливості з константою стійкості K [38].

Різниця електрофоретичних рухливостей розчину вільного катіону металу після комплексоутворення виражається через час міграції [39]:

$$(\mu_c - \mu_f) = \frac{L_D \times L_T}{U} \times \left(\frac{1}{t_f} - \frac{1}{t_c} \right), \quad (12)$$

де L_T і L_D – загальна довжина капіляра і довжина капіляра до детектора відповідно; U – напруга; t_f і t_c – час міграції вільного розчину катіону металу та розчину після комплексоутворення.

Усі наведені вище рівняння базуються на рівноважній реакції комплексоутворення:



з якої константа стійкості комплексу має такий вигляд:

$$K = \frac{[MeL]}{[Me^+][L^-]}. \quad (14)$$

З огляду на залежність константи від електрофоретичної рухливості, формула для експериментального визначення константи стійкості набуває такого вигляду [39]:

$$K = \frac{1}{[L^-]} \frac{\mu_f - \mu_{eff}}{\mu_{eff} - \mu_c} \cong \frac{1}{c_n} \frac{\mu_f - \mu_{eff}}{\mu_{eff} - \mu_n}, \quad (15)$$

де μ_{eff} – ефективна електрофоретична рухливість; μ_f – електрофоретична рухливість вільного розчину металу; μ_c – електрофоретична рухливість комплексу; μ_n – електрофоретична рухливість n -го компонента розчину; c_n – концентрація n -го компонента розчину.

Ефективна електрофоретична рухливість – це сума електрофоретичних рухливостей усіх компонентів розчину залежно від їх мольної частки [39]:

$$\begin{aligned} \mu_{eff} &= \frac{[Me^+]}{[Me^+] + [MeL]} \mu_f + \frac{[Me^+]}{[Me^+] + [MeL]} \mu_c = \\ &= \sum_n x_n \mu_n, \end{aligned} \quad (16)$$

де x_n – мольна частка n -го компонента розчину.

Отже, для експериментального визначення константи стійкості комплексів використовують залежність стійкості комплексу від ефективної електрофоретичної рухливості, рівняння якої з урахуванням особливостей реакції комплексоутворення набуває такого вигляду [40]:

$$\mu_{eff} = \frac{\sum_{n=0}^N \mu_n [A_{p_n} B_{q_n} C_{r_n} D_{s_n}]}{\sum_{n=0}^N q_n K_n [A]^{p_n} [B]^{q_n} [C]^{r_n} [D]^{s_n}}, \quad (17)$$

де μ_n – електрофоретична рухливість n -го компонента розчину; q_n – заряд n -го компонента розчину; p_n, q_n, r_n, s_n – стехіометричні коефіцієнти.

При розрахунках також треба брати до уваги залежність електрофоретичної рухливості не тільки від в'язкості середовища, заряду та радіусу комплексу, але й від рН та електроосмотичного потоку.

Висновки

Отже, комплексоутворення у капілярно-електрофоретичних методах знайшло широке практичне застосування, оскільки ці методи відрізняються високою чутливістю, що дає змогу використовувати їх у всіх галузях, які потребують точного і швидкого, якісного та кількісного аналізу. Цьому сприяють широкі можливості для створення нових методик. Комплексоутворення застосовують як для підвищення селективності розділення, так і для уможливлення УФ-детектування. Залежно від мети вибирають спосіб дериватизації та тип ліганду. При розробці нових методик велике значення має врахування факторів, які впливають на комплексоутворення та на рухливість комплексів у капілярі. До основних чинників належать природа досліджуваної речовини, рН та концентрація буферного електроліту, тип та концентрація комплексоутворюючого реагенту, температура, напруга. рН та концентрація буферного розчину визначають швидкість ЕОП, змінюючи дисоціацію силанольних груп на стінках капіляру. Стійкість комплексних сполук залежить від концентрації, типу комплексоутворюючого реагенту та природи досліджуваної речовини. Підвищення напруги сприяє прискоренню заряджених частинок. Температура має вагомий вплив на електрофоретичну рухливість, оскільки змінюється в'язкість електролітного розчину.

З огляду на розкриття у роботі переваг капілярного електрофореу, доцільним є впровадження цього методу в Україні на підприємствах, де проводиться детальний аналіз речовин у мікрокількостях, зокрема виявлення домішок у фармацевтичних препаратах, аналіз дитячого харчування тощо. Цей метод можна застосовувати у кримі-

налістиці та при проведенні клінічних аналізів. Також перспективним є заміна електрофорезу на

капілярний електрофорез у наукових установах біологічного профілю.

1. *Kheterpal I., Mathies R. A.* Capillary array electrophoresis DNA sequencing *II Anal. Chem.*- 1999.- Vol. 71.- P. 31-42.
2. *Sunada T. M., Blanch H. W.* Polymeric separation media for capillary electrophoresis of nucleic acids *II Electrophoresis*, - 1997.- Vol. 18.- P. 2243-2254.
3. *Liu B.-E., Liu L.-B., Cheng J.-K.* Analysis of inorganic cations as their complexes by capillary electrophoresis *II J. of Chromatogr. A.*, - 1999.- Vol. 834.- P. 277-308.
4. *Timerbaev A. R.* Capillary electrophoresis of inorganic ions: an update *II Electrophoresis*, - 2004.- Vol. 25.- P. 4008-4031.
5. *Cahours X., Morin P., Dreux M.* Quantitative determination of inorganic minor cations in sodium, calcium-, magnesium-matrix simulated samples by capillary electrophoresis *II J. of Chromatogr. A.* - 1998.- Vol. 810.- P. 209-220.
6. *Shakulashvili N.* Simultaneous determination of alkali, alkaline earth and transition metal ions by capillary electrophoresis with indirect UV detection *II J. of Chromatogr. A.* - 2000.- Vol. 895.- P. 205-212.
7. *Timerbaev A. R.* Element speciation analysis by capillary electrophoresis *II Talanta*, - 2000.- Vol. 52.- P. 537-606.
8. *Rundlett K. L., Armstrong D. W.* Capillary electrophoresis based immunoassays *II Electrophoresis*, - 1997.- Vol. 18.- P. 2194-2202.
9. MicroSolv Technology Corporation.- [Cited 2002].- Available from: <<http://www.microsolvttech.com/cebasic.asp>> .
10. *Kotrly S., Sucha L.* Chemical equilibria in analytical chemistry.- Chichester: Ellis Horwood, 1985.- P. 258.
11. *Conradi S., Vogt C., Wittrisch H., Knobloch G., Werner G.* Capillary electrophoretic separation of metal ions using complex forming equilibria of different stability *II J. of Chromatogr. A.*, - 1996.- Vol. 745.- P. 103-109.
12. *Timerbaev A. R., Semenova O. P., Jandik P. and Bonn G. K.* Metal ion capillary electrophoresis with direct UV detection effect of a charged surfactant on the migration behavior of metal chelates *II J. of Chromatogr. A.* - 1994.- Vol. 671.- P. 419-427.
13. *Wang T.* Migration behavior of alkali and alkaline-earth metal ion-EDTA complexes and quantitative analysis of magnesium in real samples by capillary electrophoresis with indirect UF detection *III J. of Chromatogr. A.* - 1995.- Vol. 707.- P. 343-353.
14. *Padaraskas A.* Derivatization of inorganic ions in capillary electrophoresis *II Electrophoresis*, - 2003.- Vol. 24.- P. 2054-2063.
15. *Chiari M.* Enhancement of selectivity in capillary electrophoretic separations of metals and ligands through complex formation *II J. of Chromatogr. A.* - 1998.- Vol. 805.- P. 1-15.
16. *Lin T. I., Lee Y. C.* Capillary electrophoretic analysis of inorganic cations - role of complexing agent and buffer pH *II J. of Chromatogr. A.*, - 1993.- Vol. 654.- P. 167-176.
17. *Shi Y., Fritz J. S.* Separation of metal ions by capillary electrophoresis with complexing electrolyte *II J. of Chromatogr. A.* - 1993.- Vol. 640.- P. 473-479.
18. *Timerbaev A. R., Buchberger W., Semenova O. P., Bonn G. K.* Metal ion capillary zone electrophoresis with direct UV detection: separation of metal cyanide complexes *II J. of Chromatogr. A.* - 1993.- Vol. 630.- P. 379-389.
19. *Kuban P., Kuban P., Kuban V.* Simultaneous capillary electrophoretic separation of small anions and cations after complexation with ethylenediaminetetraacetic acid *II J. of Chromatogr. A.* - 1999.- Vol. 836.- P. 75-80.
20. *Riviello J. M., Harrold M. P.* Capillary electrophoresis of inorganic cations and low-molecular-mass amines using a copper-based electrolyte with indirect UV detection *II J. of Chromatogr. A.* - 1993.- Vol. 652.- P. 385-392.
21. *Francois C., Morin Ph., Dreux M.* Separation of transition metal cations by capillary electrophoresis optimization of complexing agent concentrations (lactic acid and 18-crown-6) *II J. of Chromatogr. A.* - 1995.- Vol. 717.- P. 393-408.
22. *Vanifatova N. G., Spivakov B. Ya.* *II Russian J. Anal. Chem.*- 1997.- Vol. 52.- P. 157.
23. *Jung G. Y., Kim Y. S., Lim H. B.* *II Anal. Sei.*, - 1997.- Vol. 13.- P. 463.
24. *Buchberger W., Haddad P. R.* *II J. Chromatogr. A.*- 1994.- Vol. 687.- P. 343.
25. *Kinzer J. A., Olesik J. W., Olesik S. V.* *II Anal. Chem.*, - 1996.- Vol. 68.- P. 3250.
26. *Olesik J. W., Kinzer J. A., Olesik S. V.* *II Anal. Chem.*, - 1995.- Vol. 67.- P. 1.
27. *Latva M., Ala-Kleme T., Bjennes H., Kankare J., Haapakka K.* *II Analyst.*- 1995.- Vol. 120.- P. 367.
28. *Buchberger W., Muilleder S.* *Mikrochim // Acta.*- 1995.- Vol. 119.- P. 103.
29. *Wiley J. P.* Determination of polycarboxylic acids by capillary electrophoresis *II J. of Chromatogr. A.* - 1995.- Vol. 692.- P. 267-274.
30. *Harvey S. D.* Capillary zone electrophoretic and micellar electrokinetic capillary chromatographic separations of polyaminopolycarboxylic acids as their copper complexes *II J. of Chromatogr. A.* - 1996.- Vol. 736.- P. 333-340.
31. *Maccka M., Haddad P. R., Buchberger W.* Separation of some metallochromic ligands by capillary zone electrophoresis and micellar capillary chromatography *II J. of Chromatogr. A.* - 1995.- Vol. 706.- P. 493-501.
32. *Davankov V. A., Kurganov A. A., Bochkov A. S.* Resolution of racemates by capillary electrophoresis *II Adv. Chromatogr.*- 1993.- Vol. 22.- P. 71-79.
33. *Mosher R. A.* The use of metalion-supplemented buffers to enhance the resolution of peptides in capillary zone electrophoresis *II Electrophoresis*, - 1990.- Vol. 11.- P. 765-769.
34. *Руководство по капиллярному электрофорезу I* Под ред. А. М. Волошук,- М., 1996,- 192 с.
35. *Антоноук Н. Г., Василенко О. О.* Використання методу зонального електрофорезу для визначення неорганічних йонів *II Наукові записки НаУКМА: Хім. науки і технол.*- 2004.- № 28.- С 35-50.
36. *Weston A., Brown PR., Jandik P., Heckenberg A. L., Jones W. R.* Effect of electrolyse composition on the separation of inorganic metal cations by capillary ion electrophoresis *II J. of Chromatogr. A.* - 1992.- Vol. 608.- P. 395-402.
37. *Kimber L. R., Armstrong D. W.* Examination of the origin, variation, and proper use of expressions for the estimation of association constants by capillary electrophoresis *II J. of Chromatogr. A.* - 1996.- Vol. 721.- P. 173-186.

38. *Martin Pumera, Radka Matalova.* Comparison of association constants of cyclodextrins and their *tert*-butyl derivatives with halogenbenzoic acids and acridine derivatives *II Molecules.*- 2001.- Vol. 6.- P. 221-229.
39. *Gomez K.A., Avila L. Z., Biebuyck H. A., Whitesides G. M.* Determination of binding constants of ligands to proteins by affinity capillary electrophoresis: compensation for electroosmotic flow *II Anal. Chem.*- 1994.- Vol. 66.- P. 18-24.
40. *Janos P.* Role of Chemical equilibria in capillary electrophoresis of inorganic substances *II J. of Chromatogr. A.*- 1999.- Vol. 834.-P. 3-20.

N. Antoniuk, O. Vasylenko, I. Kolesnik

COMPLEXES IN CAPILLARY ELECTROPHORESIS

In this paper is investigated use of complex formation in capillary electrophoresis. Factors which influence on separation of complexes are analyzed.