

2.2.31. ЕЛЕКТРОФОРЕЗ⁽¹⁾

1. ЗАГАЛЬНІ ПРИНЦИПИ

Під дією електричного поля заряджені частинки, розчинені або дисперговані в розчині електроліту, мігрують у напрямку до електрода протилежної полярності. У гель-електрофорезі рух частинок сповільнюється внаслідок взаємодій з оточуючою матрицею гелю, що діє як молекулярне сито. Зустрічні взаємодії електричної сили і молекулярного сита призводять до диференціації швидкостей міграції частинок в залежності від їхніх розмірів, форм і зарядів. У ході електрофорезу через розходження фізико-хімічних властивостей різні макромолекули суміші мігрують з різною швидкістю, у такий спосіб поділяючись на дискретні фракції. Електрофоретичне розділення може бути проведене у системах без нерухомих фаз (наприклад, вільне розділення розчину в капілярному електрофорезі) і в стабілізованих середовищах, таких як тонкошарові пластинки, плівки або гелі.

2. ВІЛЬНИЙ АБО З РУХЛИВОЮ МЕЖЕЮ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ

Цей метод зазвичай використовується для визначення електрофоретичної рухливості, експериментальної характеристики речовин, безпосередньо вимірюваної і відтворюваної. Цей метод переважно застосовується для речовин з високою відносною молекулярною масою, що мають слабку дифузійну здатність. Межі спочатку визначаються фізичними методами, наприклад рефрактометриєю або кондуктометриєю. Під дією заданого електричного поля протягом точно виміряного часу визначають нові межі та їхнє відносне положення. Умови випробування підбирають так, щоб можливо було визначити стільки меж, скільки компонентів присутньо у випробовуваному зразку.

3. ЗОНАЛЬНИЙ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ З ВИКОРИСТАННЯМ ФАЗИ НОСІЯ

У цьому методі лише невеликі зразки випробовуваної речовини можуть бути використані.

Природа носія, наприклад папір, агар-гель, целюлози ацетат, крохмаль, агароза, метакриламід, змішаний гель, обумовлює ряд додаткових факторів, модифікуючих рухливість:

- внаслідок наявності каналів у фазі носія уявна відстань, яку проходить речовина, є меншою за реально пройдену відстань;
- деякі фази носія електрично не нейтральні. Оскільки носій є нерухомою фазою, це іноді може

призводити до збільшення електроендосмотичного потоку;

- будь-яке нагрівання внаслідок ефекту Джоуля може викликати деяке випаровування рідини з фази носія, що, внаслідок капілярності, призводить до руху розчину в напрямку від країв до центру. Іонна сила у такий спосіб має тенденцію поступово зростати.

Отже, швидкість міграції залежить від чотирьох головних факторів: рухливості зарядженої частинки, потоку електроендосмосу, потоку випаровування, а також сили (напруги) поля. Тому необхідно проводити випробування у строго визначених експериментальних умовах і, за можливості, використовувати стандартні зразки.

Прилад для електрофорезу включає таке:

- *джерело постійного струму*, напруга якого може контролюватися і, бажано, стабілізуватися;
- *електрофоретичну камеру*. Зазвичай прямокутний відсік зі скла або твердої пластмаси, що має два окремі резервуари — анодний і катодний, які містять розчин електроліту. У кожному резервуарі занурюється електрод, наприклад платиновий або графітовий. Вони приєднуються відповідною ізолюваною схемою до відповідного виходу джерела живлення, щоб сформувати анод і катод. Рівень рідини у двох резервуарах підтримується рівним для запобігання сифонуванню. Електрофоретична камера обладнана повітронепроникною кришкою, що підтримує атмосферу насиченої вологості протягом випробування і зменшує випаровування розчинника. При знятті кришки струм має вимикатися запобіжником. Якщо електрорушійна сила, вимірювана по смузі, перевищує 10 Вт, бажано охолодити носій.
- *пристрій установки носія*.

Електрофорез у смужках. Смужки носія, попередньо змоченого електродним розчином, занурюють у кожен кінець електродного резервуара, закріплюють і фіксують відповідним тримачем для запобігання дифузії електроліту. Такими тримачами можуть бути горизонтальна рамка, обернений V-подібний тримач або однорідна поверхня з точками контакту через підхожі інтервали.

Гель-електрофорез. Пристрій, по суті, складається зі скляної пластинки (наприклад, предметне скло), на усю поверхню якої нанесений міцно приліплений шар гелю однакової товщини. З'єднання гелю з електродним розчином здійснюється різними способами в залежності від типу використовуваного приладу. Треба вжити застережних заходів для запобігання конденсації вологи або висушуванню твердого шару.

- *вимірювальний пристрій або засіб детектування*.

Методика. Розчин електроліту поміщають в електродні резервуари. Відповідним чином імпрегнований носій з електролітним розчином поміщають у камеру за зазначених для використовуваного при-

(1) Ця загальна стаття проходить фармакопейну гармонізацію. Див. статтю Ph.Eur. 5.8. *Pharmacopoeial harmonisation*