

## VODIVOSTNÍ VLÁKNOVÝ DETEKTOR PRO KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZU\*

PETR TŮMA, FRANTIŠEK OPEKAR  
a IVAN JELÍNEK

UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 43 Praha 2

Došlo dne 8.I.1999

Klíčová slova: Kapilární elektroforéza, vodivostní vláknový detektor

### Úvod

Kapilární zónová elektroforéza (CZE) patří společně s vysokouúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) a plynovou chromatografií (GC) k nejvíce používaným separačním technikám. Toto postavení získala především pro své nesporné výhody, ke kterým patří v první řadě vysoká rychlost analýzy, účinnost dosahující až miliónů teoretických pater, malé množství vzorku potřebné pro analýzu, malá spotřeba mobilní fáze a z toho vyplývající nízké náklady na provoz. Malé množství dávkovaného vzorku, které se pohybuje řádově v jednotkách nanogramů, a především malý vnitřní průměr separační kapiláry dovoluje použít pouze detekčních cel o rozměrech srovnatelných s vnitřním průměrem kapiláry. V opačném případě by docházelo při použití rozměrných cel k dodatečnému rozmývání separovaných zón a tím ke snižování celkové účinnosti separace. V důsledku těchto instrumentálních podmínek jsou kladeny velké nároky i na citlivost detekce.

Běžně používanou detekční technikou je vedle spektrofotometrické detekce v UV oblasti detekce vodivostní. Je vhodná zejména pro detekci malých anorganických iontů, pro něž je přímá UV detekce málo citlivá a nepřímá UV detekce zase náročná na volbu vhodného absorbujícího iontu stejného znaménka v mobilní fázi (co-iontu). Vodivostní detekce ve spojení z CZE musí řešit zásadní problém, který lze charakterizovat jako rušivý vliv silného separačního pole na elektrický obvod vlastního vodivostního detektoru. Tento problém je v praxi v zásadě řešen dvěma různými způsoby:

- vytvořením zlomu před koncem separační kapiláry a odvedením separačního pole mimo vlastní vodivostní detektor;
- umístěním indikační vodivostní elektrody do takové vzdálenosti od konce separační kapiláry, kde se již separační pole neprojevuje.

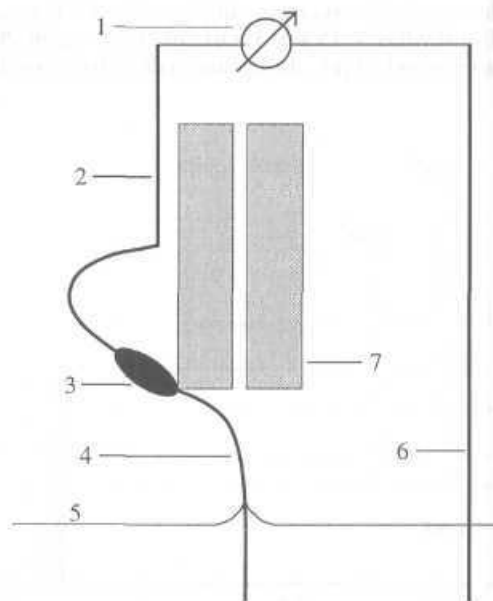
Prvé řešení je po konstrukční stránce značně náročné a komplikuje měřící aparaturu, druhé řešení je použitelné pouze u kapilár o vnitřním průměru menším než 25  $\mu\text{m}$ . V druhém případě, u kapilár o vnitřním průměru 50 až 100  $\mu\text{m}$ , které jsou užívány v běžných rutinních analýzách, elektrické separační pole vystupuje z konce kapiláry příliš daleko do hloubi roztoku. Detekční cel má v tomto případě velký objem a zároveň dochází k poklesu citlivosti vodivostního detektoru.

Pro kapiláry o vnitřním průměru větším než 75  $\mu\text{m}$  byl navržen vodivostní detektor, jehož konstrukce a vlastnosti jsou popsány v tomto článku. Konstrukce detektoru je atypická. Jedná se o měření vodivosti roztoku zachyceného na hydrofilním vlákně, které je pevně adjustováno ke konci separační kapiláry. Konec separační kapiláry se nachází těsně nad hladinou roztoku v koncové nádobce. Roztok vytékající z kapiláry je odváděn tímto vláknem do koncové nádoby. Vodivostní elektrody jsou umístěny tak, že měří vodivost elektrolytu právě zachyceného na vlákně a zároveň jsou dostatečně vzdáleny od ústí kapiláry, aby signál nebyl ovlivňován separačním polem.

### Experimentální část

#### Konstrukce vláknového detektoru

Z celofánové fólie o tloušťce 0,03 mm byla žiletkou nařezána vlákna délky asi 10 mm a šířky asi 0,15 mm. Vlákno bylo malou kapičkou vodivého stříbrného epoxidu (electrically conductive silver epoxy EPO-TEK H31D, Epoxy technology Inc, USA) přilepeno k pocínovanému měděnému drátku sloužícímu jako elektrický kontakt. Takto připravený drátek s připraveným vláknem byl fixován ke konci separační kapiláry teflonovou páskou tak, aby vlákno bylo v těsné blízkosti ústí a mohl po něm stékat roztok vytékající z kapiláry. Volný konec vlákna zasahoval do koncové nádoby s roztokem pufru tak, že spojení roztoku vytékajícího z kapiláry s roztokem v nádobce s pufrém bylo zprostředkováno pouze celofánem. V nádobce s pufrém byl též ponořen druhý platinový drátek; při detekci se měří vodivost vlákna celofánu mezi kapičkou stříbrného epoxidu a touto druhou platinovou elektrodou. Schéma popsaného detektoru je na obr. 1.



Obr. 1. Schéma vláknového detektoru; 1 - měřící zařízení, 2 - Cu drátek, 3 - epoxidový spoj, 4 - hydrofilní vlákno, 5 - hladina kapaliny v koncové nádobce, 6 - Pt drátek, 7 - konec separační kapiláry

\* Tato práce získala 2. cenu v soutěži odborných prací studentů analytické chemie 20. listopadu 1998 na VŠCHT v Praze

## Aparatura

Všechna měření byla prováděna na přístroji CRYSTAL 310 CE instrument (ATI Unicam, UK). Dávkováno bylo hydrodynamicky tlakem 20 mbar po dobu 6 s. Separační kapilára byla z taženého křemene s povrchovou vrstvou polyimidu o vnitřním průměru 75  $\mu\text{m}$  a vnějším průměru 375  $\mu\text{m}$  (Composite Metal Services Ltd., Velká Británie). Délka kapiláry byla 79 cm. Pro nepřímou uv detekci byl použit uv-detektor Unicam 4225 (ATI Unicam, UK).

Odezva detektoru byla měřena konduktometrem sestaveným z operačních zesilovačů. Signál z konduktometru byl snímán a zpracován zařízením pro sběr dat, které je součástí přístroje CRYSTAL 310 CE.

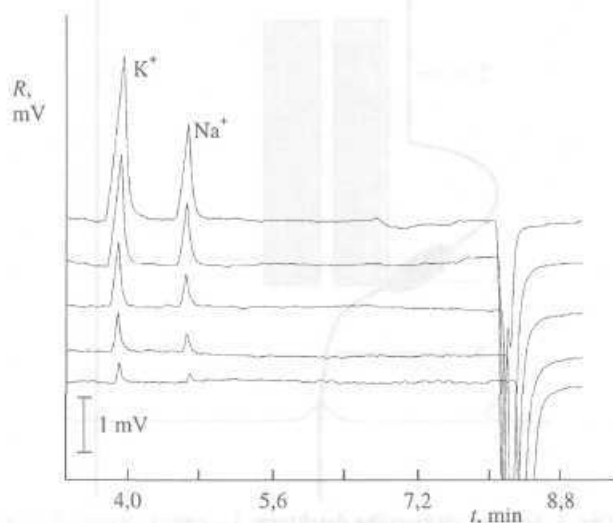
Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

## Chemikálie

V průběhu testování detektoru byly použity tyto chemikálie: chlorid draselný a chlorid sodný, p.a., LACHEMA Brno; hydroxid lithný monohydrát, MES (2-morfolinethansulfonová kyselina), imidazol, Merck, Německo; MOPS (3-[N-morfolin] propansulfonová kyselina), 99,5 %, Sigma Chemical Co. Analyzované vzorky minerálních vod Mattoni, Korunní a Mlýnský pramen byly zakoupeny v obchodní síti.

## Výsledky a diskuse

Vláknový detektor ve spojení s CZE byl použit k měření obsahu sodných a draselných iontů v minerálních vodách Mattoni, Korunní a Mlýnský pramen, které jsou běžně dostupné v naší obchodní síti. Na etiketách výrobků jsou uvedeny hodnoty obsahu minerálních látek. Analýza minerálů byla provedena při těchto experimentálních podmínkách: separační pufr 30 mM MES + 15 mM LiOH (pH 6,1), napětí 20 kV, protékající proud 12  $\mu\text{A}$ , dávkování hydrodynamické tlakem



**Obr. 2.** Kalibrační elektroferogramy sodných a draselných iontů o ekvimolárních koncentracích v rozmezí  $5 \cdot 10^{-3}$  až  $1 \cdot 10^{-2}$  mol.dm<sup>-3</sup>, R odezva v mV (experimentální podmínky viz text)

20 mbar po dobu 6 s, délka separační kapiláry 79 cm a délka hydrofilního vlákna 0,5 mm.

Závislost odezvy detektoru (plocha píku, G) na koncentraci je lineární pro oba stanovované ionty. Příslušné kalibrační rovnice jsou:

pro draselné ionty

$$G [\mu\text{S}\cdot\text{s}] = 2265,6 (92,4) c [\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}] + 0,37 (0,47);$$

pro sodné ionty

$$G [\mu\text{S}\cdot\text{s}] = 1007,0 (35,7) c [\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}] + 0,09 (0,18);$$

v závorkách jsou standardní odchylky. Kalibrační elektroferogramy jsou pro ilustraci zobrazeny na obr. 2. Naměřené hodnoty obsahu stanovovaných iontů jsou zaznamenány v tabulce I.

Příspěvek vodivostního detektoru k celkovému rozmytí píků byl sledován porovnáním účinnosti separačního procesu zjišťovaného z dat změřených vodivostní a nepřímou uv detekcí. Nepřímá uv detekce byla provedena za stejných podmínek dávkování, separačního napětí i délky kapiláry jako vodivostní detekce. Účinnost separace vyjádřená počtem teoretických pater lze vypočítat z příslušných retenčních dat dle vztahu:

$$N = 16[t(r)/w(b)]^2$$

kde N udává počet teoretických pater,  $t(r)$  je retenční čas [s],  $w(b)$  je šířka píku při základně [s].

Jako separační pufr pro nepřímou uv detekci byl zvolen 30 mM imidazol + 30 mM MOPS a měřeno bylo při vlnové délce  $\lambda = 215\text{nm}$ . Z porovnání účinností separace plyne, že vláknový vodivostní detektor snižuje účinnost separace v porovnání s uv detektorem přibližně o 10 %. Snížení účinnosti je zapříčiněno většími rozměry vodivostní cely oproti rozměrům spektrofotometrického detektoru, kterým jsou detekovány zóny látek přímo v kapiláře.

## Tabulka I

Stanovení obsahu sodných a draselných iontů v minerálních vodách vodivostním detektorem s vláknem celofánu a nepřímou uv detekcí. Získané hodnoty byly porovnány s údaji o koncentraci iontů uvedených na etiketách. Nepřímá uv detekce byla provedena v separačním pufru 30 mM imidazol + 30 mM MOPS, při vlnové délce 215 nm

Minerální voda	Ion	Koncentrace [mg.l <sup>-1</sup> ]		
		deklarovaní	nalezená	
			vodivostně	nepřímou uv
Mattoni	K <sup>+</sup>	32,6	22,2	27,2
	Na <sup>+</sup>	148,8	116,2	116,2
Korunní	K <sup>+</sup>	39,2	26,3	26,1
	Na <sup>+</sup>	104,7	153,7	121,0
Mlýnský pramen	K <sup>+</sup>	96,0	63,7	60,6
	Na <sup>+</sup>	1695,0	1497,7	1520,5

## Závěr

Vláknový vodivostní detektor popsáný v této práci je charakteristický atypickým přístupem k řešení problému negativního vlivu separačního pole na vlastní signál vodivostního detektoru. Vlastnosti tohoto detektoru lze shrnout v několika bodech:

Detektor umožňuje vodivostní detekci přímo u ústí separační kapiláry a to při běžně užívaných hodnotách separačního napětí i při použití separačních kapilár o velkém vnitřním průměru i.d. > 70  $\mu\text{m}$ , které jsou užívány pro rutinní analýzy.

Z provedených měření je zřejmé, že detektor nepřispívá k deformaci tvaru píku.

Vliv detektoru na snížení účinnosti separace je charakteristickým jevem u detektorů eliminujících vliv pole, u nichž je větší geometrický objem nutnou podmínkou.

Odezva detektoru by la ve studovaném oboru lineární funkcí koncentrace a její závislost na délce detekčního vlákna i průtokové rychlosti mobilní fáze vykazovaly očekávaný charakter.

Umístění detektoru ke konci kapiláry je velice snadné a délka detekčního vlákna je nastavena pomocí mikrometrického šroubu. V případě poškození separační kapiláry je snadná možnost přemístění detektoru ke kapiláře jiné. Též konstrukce detektoru je jednoduchá, neklade nároky na volbu speciálních materiálů, konstrukčních pomůcek ani schopnosti konstruktéra.

*Autoři děkují za finanční podporu Fondu rozvoje vysokých škol, grant č. 1363/1998.*

## LITERATURA

1. Li S. F. Y.: *Capillary Electrophoresis — Principles, Practice and Applications*. Elsevier, Amsterdam 1992.
2. Ewing A. G., Mesaros J. M., Gavin P. F.: *Anal. Chem.* 66, 527A (1994).
3. Jandik P., Bonn G.: *Capillary Electrophoresis of Small Molecules and Ions*. VCH, Linz 1993.

**P. Tůma, F. Opekar, and I. Jelínek** (*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Conductometric Detector for Capillary Electrophoresis Based on a Hydrophilic Strip**

A thin hydrophilic strip of cellophane is attached to the tip of the separation capillary so that the solution flowing from the capillary passes through the strip to the solution in the outlet vial. The conductivity of the strip is measured between a metallic contact to the strip and an auxiliary platinum electrode placed in the outlet vial solution. An interference of the measured signal with a separation electric field coming out from the capillary is eliminated in this arrangement. The detector was employed in determining potassium and sodium ions in mineral waters.

## POTENCIOMETRICKÉ STANOVENÍ KONSTANT STABILITY\*

MARTIN KRONĎÁK, VLADIMÍR KRÁL,  
TAJÁNA V. ŠIŠKANOVÁ a RADKO VOLF

*Ústav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6*

Došlo dne 12.III.1999

Klíčová slova: konstanty stability, potenciometrické stanovení

## Úvod

Supramolekulární chemie, obor zabývající se studiem nekovalentních komplexů molekul, představuje novou interdisciplinární oblast na pomezí analytické chemie, organické chemie, fyzikální chemie a biochemie. Inspirována přírodou s jejím jedinečným souborem molekul, jež specificky komplexují se svými substráty na principu zámku a klíče, či nověji dle teorie indukovaného přizpůsobení, se snaží vytvářet receptory (ligandy), které jsou schopny selektivně komplexovat pouze jeden typ substrátu (analytu).

Pro takovéto látky se nabízí využití jako selektivní léčiva, či nosiče léků, při separaci složitých směsí látek a v neposlední řadě při detekci látek v analytické chemii. Různé ligandy zde nacházejí uplatnění v kapalinové chromatografii jako specifické stacionární fáze vzniklé fixací ligandu na vhodný polymerní sorbent. V optických metodách se využívá princip tzv. optod, kdy ligand fixovaný na nosiči mění v přítomnosti substrátu své optické vlastnosti. V neposlední řadě jsou to elektrochemické aplikace supramolekulárních ligandů, ty se zde využívají jako ionofory v membránových elektrodách<sup>1</sup>, nebo jsou fixovány na povrch kovu v elektropolymerních iontově selektivních elektrodách<sup>2</sup> (ISE).

Membránové ISE sestávají ze svodové, většinou argenticchloridové elektrody, která je od vnějšího měřeného roztoku oddělena tenkou membránou. Ta je složena z PVC nosiče a vysokomolekulárního nepolárního rozpustidla (*orto*-nitrofenyloxyetyler, dioktylfthalát, dibutylsebakát a další), které tvoří prostředí komplexace. Kromě aktivního ligandu je též v malém množství v membráně přítomen lipofilní přídavek, který zlepšuje parametry elektrody.

Pro návrh optimálně fungující elektrody je třeba znát způsob a parametry komplexace systému ligand–substrát. Jedním z těchto parametrů je konstanta stability takového komplexu. Pro optimální funkci ISE nesmí být konstanta stability příliš malá, protože by nedocházelo ke komplexaci a ke vzniku měřeného potenciálu. A nesmí být též příliš velká, neboť by se ligand v membráně napevno vázal se substrátem a došlo by k jeho pasivaci<sup>3</sup>.

Vzhledem k významu konstant stability bylo vyvinuto mnoho metod pro jejich stanovení. Nejobvyklejší jsou, kromě potenciometrického stanovení, NMR spektroskopie, UV/VIS spektrofotometrie, fluorimetrie, konduktometrie.

\* Tato práce získala 3. cenu v soutěži odborných prací studentů analytické chemie 20. listopadu 1998 na VŠCHT v Praze