

MINIATURIZOVANÉ AMPÉROMETRICKÉ DETEKTORY PRO HPLC A KAPILÁRNÍ ZÓNOVOU ELEKTROFORÉZU

KAROLINA PECKOVÁ^{*a}, VERONIKA MOCKO^b, FRANTIŠEK OPEKAR^a, GREG M. SWAIN^b, JIŘÍ ZIMA^a a JIŘÍ BAREK^a

^a UNESCO Laboratoř elektrochemie životního prostředí, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2, ^b Department of Chemistry, 320 Chemistry Building, Michigan State University, East Lansing, Michigan 48824-1322, USA
kpeckova@natur.cuni.cz

Došlo 15.12.05, přijato 12.1.06.

Klíčová slova: ampérometrická detekce, miniaturizace, HPLC, mikrocyklindrická elektroda, kapilární elektroforéza, bórem dopovaný diamant

Úvod

Miniaturizace analytických zařízení je atraktivním vývojem směrem analytické chemie v posledních dvou desetiletích, předznamenáným rozvojem mikro-HPLC (μ HPLC) technik a zavedením kapilárních elektromigračních separačních metod. Cílem tohoto směru je vytvoření miniaturizovaných integrovaných analytických systémů (micro total analysis systems – μ TAS) umožňujících provedení jednotlivých kroků analýzy včetně separace a detekce na jednom zařízení. Dokládá to i navržení konceptu „Lab on the chip“¹ v roce 1990 a „Lab on the valve“ o deset let později². Přehledné referáty věnované μ TAS (cit.^{3–6}) ukazují, že výhodou navrhovaných kompaktních miniaturizovaných zařízení je vedle nízkých pořizovacích nákladů, nepatrné spotřeby analytů a rozpouštědel s malou produkcí odpadu hlavně rychlost analýzy. Zároveň je očekávána snadná přenosnost zařízení, což otevírá nové možnosti analýzy při environmentálních aplikacích a klinické diagnostice. Zatímco miniaturizované separační systémy jako např. kapilární kolony pro HPLC a křemenné kapiláry a čipy pro kapilární elektroforézu (CE) jsou buď komerčně dostupné, nebo je dostatečně známa technologie jejich přípravy, problémem zůstává spíše integrace s vhodným detekčním systémem. Problematické je např. využití spektrofotomet-

rických a klasických fluorescenčních detektorů vzhledem k omezené délce paprsku v miniaturizované detekční cele. Široké uplatnění, obzvláště při analýzách na elektroforetických čípech, tak nalezla pouze technika laserem buzené fluorescence (LIF), kdy lze paprsek budícího laseru soustředit přímo do prostoru detekční cely a dosáhnout subnanomolárních detekčních limitů^{7,11}. Nevýhodou této metody je nutnost zavedení fluoroforu pro látky nevykazující přirozenou fluorescenci, což je zpravidla podmíněno přítomností volné amino, thio nebo hydroxyskupiny v analytu pro derivatizaci. Druhou běžně využívanou metodou i ve spojení s μ HPLC je hmotnostní detekce (MS), jelikož malé objemové průtoky mobilní fáze snižují nároky na výkon vakuových pump v MS, obzvláště při spojení s ionizací elektrosprejem (μ HPLC/ESI-MS). Tato technika je spolu s MS používajícím analyzátor doby letu (time-of-flight, TOF-MS) uplatňována i v CE, její rozvoj v této oblasti je dán hlavně neutuchajícím zájmem o proteomiku^{7–10}. Obě metody, LIF i MS, jsou ovšem nevýhodné pro analýzy na čipu, neboť vyžadují objemnou detekční a kontrolní instrumentaci odporující požadavku přenosnosti. Elektrochemická detekce, která nalezla již dříve široké uplatnění ve spojení s kapalinovou chromatografií a průtokovou a sekvenční injekční analýzou^{12,13}, prožívá v souvislosti s rozvojem miniaturizovaných separačních systémů období renesance, a to z několika důvodů¹⁴:

- technologie výroby miniaturizovaných elektrod a detekčních obvodů je dostatečně zvládnutá,
- zmenšení elektrodových ploch z milimetrových na mikrometrové rozměry zpravidla nesnižuje detekční limity,
- elektrické obvody kontrolující detekční systém je možno integrovat s řídicími obvody separačních systémů a zachovat tak kompatibilitu celého zařízení,
- náklady na vývoj, výrobu a provoz zařízení představují zlomek ceny srovnatelně výkonných jiných detekčních systémů,
- elektrochemické detektory poskytují informaci o koncentraci detegovaných látek přímo ve formě snadno zpracovatelných elektrických signálů. Odpadá tak konverze jiných forem signálu (světelný tok, hmotnost, teplota atd.) na elektrický signál.

O progresivním vývoji v oblasti řídicích jednotek svědčí fakt, že v současné době již existují přenosná zařízení napájená bateriemi s integrovaným potenciostatem a kapesním počítačem pro voltametrické a ampérometrické analýzy. Právě ampérometrie se nejvíce uplatňuje ve spojení s kapalinovými separačními metodami díky své citlivosti, zpravidla širokému dynamickému lineárnímu rozsahu a relativní selektivitě. Konstrukce ampérometrických detektorů pro kapalinovou chromatografii v mikro i makro měřítku je vedena snahou vyhovět chromatografickým a elektrochemickým požadavkům na geometrii detekčních

Karolina Pecková získala s touto prací Cenu firmy Shimadzu 2005.

cel. Na jedné straně je to snaha o miniaturizaci vlastního detekčního prostoru, aby zbytečně nedocházelo k rozmytí zóny analytu, na straně druhé je to elektrochemický požadavek na takové uspořádání, které zaručí homogenní elektrické pole mezi pracovní a pomocnou elektrodou a zároveň co nejbližší umístění referenční elektrody, což je podmínkou pro udržení definovaného potenciálu na pracovní elektrodě při ampérometrické detekci^{12,15}. Toto požadované blízké postavení všech tří elektrod zpravidla vyžaduje větší detekční prostor, což je z chromatografického hlediska nežádoucí. Dalším problémem je volba vhodného elektrodového materiálu tak, aby byla zaručena kompatibilita s mobilní fází, dostatečně široké potenciálové okno, dlouhodobá stabilita odezvy a odolnost proti pasivování. Největší uplatnění nacházejí materiály obsahující různé formy uhlíku, platiny, zlata a stříbra^{12,16}.

S výjimkou stříbra jsou tyto materiály běžné i v kapilární elektroforéze s elektrochemickou detekcí (CE-EC), oblíbené jsou zejména detektory na bázi uhlíku (uhlíková vlákna, modifikované uhlíkové pasty a inkousty, diskové elektrody a soubory uhlíkových mikroelektrod na disku)^{7,17,18}. Komplikaci CE-EC představuje nutnost izolace elektrochemického detektoru od vysokého separačního napětí. Uplatňovány jsou dva principy řešení. Prvním způsobem je vyvedení elektrického pole z kapiláry před vlastní detekční celou, realizované např. mechanickým zlomením detekční kapiláry (označováno jako „decoupling“)¹⁹. Druhou možností je umístění detekční cely dostatečně daleko za ústí separační kapiláry (detekce za kolonou, postkolonová „end-column“ detekce)²⁰, tj. mimo dosah elektrického pole vystupujícího z kapiláry, což vyžaduje přesné nastavení detekční elektrody proti konci separační kapiláry, obtížně dosažitelné při manuální manipulaci. Pro toto detekční uspořádání je výhodné používat kapiláry o vnitřním průměru menším než 25 μm , protože intenzita elektrického pole vystupujícího z kapiláry rychleji klesá s poklesem jejího vnitřního průměru²¹. Díky snadnější konstrukci je „end-column“ detekce častější jak v klasickém, tak i čipovém uspořádání CE, o čemž svědčí několik přehledných referátů věnovaných CE-EC (cit. ^{7,14,17,18}).

V této práci jsou představeny dva miniaturizované ampérometrické detektory. Prvním je detektor s mikrocyklindrickou pracovní elektrodou (μCD) pro HPLC. Dle materiálu drátka (měď či platina), z kterého je pracovní elektroda vyrobena, ho lze použít pro detekci vybraných aminokyselin či elektrochemicky oxidovatelných látek, např. amino a hydroxyderivátů naftalenu. Ty byly ampérometricky detegovány také na mikroelektrodě z diamantu dopovaného bórem (BDD) při detekci za kolonou po separaci kapilární zónovou elektroforézou (CZE) v klasickém uspořádání. Modelové analyty – 1-aminonaftalen (1-AN), 2-aminonaftalen (2-AN), 1-hydroxynaftalen (1-OHN) a 2-hydroxynaftalen (2-OHN) – patří mezi často studované genotoxické environmentální polutanty^{22,23}, aminokyseliny byly zařazeny do studie, jelikož pouze elektrochemické metody umožňují spolu s UV detekcí při 200 nm jejich přímé stanovení.

Experimentální část

Přístroje a chemikálie – HPLC s detektorem s mikrocyklindrickou elektrodou

K měření byl použit HPLC systém LaChrom (Hitachi, Merck, SRN) sestavený z vysokotlakého čerpadla L-7100, autosampleru L-7200, interface D-7000 a spektrofotometrického detektoru L-7400 a kontrolovaný softwarem HPLC System Manager (HSM) verze 4.0. Průtoková měřicí cela byla zapojena tříelektrodově a řízena ADLC 2 potenciostatem (Laboratorní přístroje, Praha). Látky byly separovány na koloně LiChrospher 100 RP-18, 125 \times 4 mm, 5 μm (Merck, SRN). Vzduch byl z mobilní fáze odstraněn probubláním heliem. K měření pH mobilní fáze bylo použito přístroje Conductivity and pH-meter 4330 (Jenway, Velká Británie) kalibrovaného standardními pH pufrů (Sevac, Praha). Pokud není uvedeno jinak, použité chemikálie čistoty p. a. byly od Lachemy Brno. Mez detekce byla spočítána jako koncentrace poskytující signál rovný trojnásobku absolutní hodnoty šumu.

Zásobní roztoky ($c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) 1-aminonaftalenu (1-AN; Fluka; 99%), 2-aminonaftalenu (2-AN; Aldrich; 99%), 1-hydroxynaftalenu (1-OHN; Aldrich; 99%) a 2-hydroxynaftalenu (2-OHN; Aldrich; 95%) byly připraveny v acetonitrilu (Merck; „gradient grade“) a uchovávány v temnu za laboratorní teploty. Roztoky o nižších koncentracích byly připraveny ředěním mobilní fáze. Pro separaci těchto analytů byla použita mobilní fáze obsahující 0,01 mol L^{-1} fosfátový pufr pH 2,3 – acetonitril (Merck; „gradient grade“) (60:40, v/v). Bylo dávkováno 20 μL , průtoková rychlost byla $F_m = 0,5 \text{ mL s}^{-1}$. Pro testování Pt- μCD s 1-AN byla jako mobilní fáze použita směs 0,01 mol L^{-1} imidazolu a 0,1 mol L^{-1} KCl, pH 7,5 s acetonitrilem (1:1, v/v). Bylo dávkováno 5 μL při průtokové rychlosti $F_m = 0,5 \text{ mL s}^{-1}$ a detekčním potenciálu +0,9 V.

Zásobní roztoky ($c = 1 \cdot 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$) valinu (val; Reanal, Budapešť, Maďarsko), fenylnalaninu (phe; Aldrich), tryptofanu (trp; Lachema Brno) a histidinu (his; Loba-Chemie, Vídeň, Rakousko) byly připraveny v 0,1 mol L^{-1} HCl, nižší koncentrace byly připraveny ředěním mobilní fáze. Tou byl 0,025 mol L^{-1} NaH_2PO_4 , pH 6,8, ve směsi s methanolem (Merck, „gradient grade“) v poměru 9:1 (v/v). Dávkovaný objem byl 20 μL . Z naměřených hydrodynamických voltamogramů byl stanoven optimální potenciál detekce + 0,1 V.

Infuzní roztok pro testování Cu- μCD detekce aminokyselin po separaci na koloně Purospher RP-18e, 250 \times 4 mm, 4 μm (Merck) byl dodán firmou Infusia Hořátev a.s. (Hořátev, ČR). Dle údajů výrobce obsahuje „Nutramin® VLI“ 10,00 g valinu, 12,77 g leucinu a 7,22 g isoleucinu v 1000 mL vody. Použitá mobilní fáze obsahovala směs 0,025 mol L^{-1} NaH_2PO_4 , pH 6,8 – methanol (2,5 %), dávkováno bylo 20 μL stokrát naředěného infuzního roztoku při průtokové rychlosti 1 mL min^{-1} .

Přístroje a chemikálie – kapilární zónová elektroforéza s detekcí na mikroelektrodě z diamantu dopovaného bórem

Kapilární zónová elektroforéza pro CZE-BDD detekci derivátů naftalenu byla sestavena v laboratoři a sestávala z vysokonapěťového zdroje CZE1000R (0–30 kV, Spellman, Hauppauge, NY), 50,5 cm dlouhé křemenné kapiláry (Polymicro Technologies, Phoenix, USA) o průměru 30 μm a časového spínače pro elektrokinetické dávkování. Kapilára byla spolu s nádobkami obsahujícími vzorek a separační pufr a detekční celou umístěna v uzemněné Faradayově kleci. Separace byla realizována při napětí 17 kV, dávkováno bylo elektrokineticky 3 s při vloženém napětí 10 kV. Detekční cela s diamantovou elektrodou dopovanou bórem, referentní Ag/AgCl (4 mol L⁻¹ KCl) a platinovou pomocnou elektrodou byla zapojena třielektrodově a řízena potenciostatem 832 A (CH Instruments, Austin, USA). Pracovní elektroda byla připravena chemickou deposicí polykrystalického diamantu metodou CVD (chemical vapor deposition) ze směsi methanu, vodíku a diboranu po dobu 10 h na platinový drátek o průměru 76 μm , vyleptaný do tvaru kužele (podrobnosti cit.^{24,25}). Kvalita BDD filmu byla ověřena Ramanovou spektroskopií a cyklickou voltametrií v 1.10⁻³ mol L⁻¹ K₄[Fe(CN)₆] v 1 mol L⁻¹ KCl (cit.²⁶). Z výšky píku tohoto voltamogramu byla vypočtena aktivní plocha elektrody dle cit.²⁶, parametry kužele tvořeného vyleptáním platiny byly $H = 3,9 \mu\text{m}$ (výška), $r = 43 \mu\text{m}$ (poloměr).

Výsledky a diskuse

Ampérometrický detektor s mikrocyklindrickou elektrodou pro HPLC

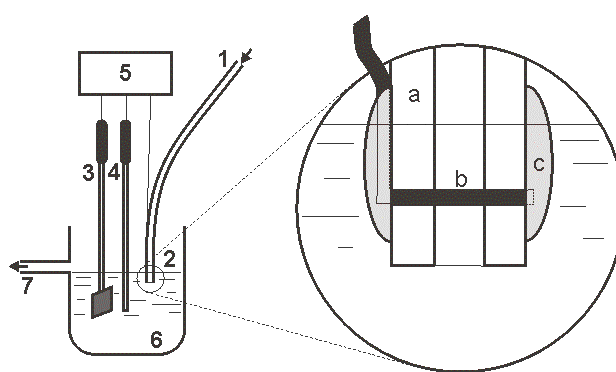
Při konstrukci μCD jsme vycházeli z osvědčené konstrukce, kdy pracovní elektroda je umístěna v teflonové kapiláře přímo napojené na výstup z kolony, a ta je ponořena do roztoku elektrolytu, stejně jako pomocná a referentní elektroda. Toto uspořádání elektrod sice nezohledňuje náročné elektrochemické požadavky na vzájemné uspořádání zmíněné v úvodu, v naší laboratoři se však již dříve osvědčilo při konstrukci platinového tubulárního detektoru (Pt-TD)¹⁵. Ten byl použit v chromatografických analýzách různých derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků, např. amino a hydroxyderivátů bifenyly, hydroxyfenanthrenů a aminochinolinů^{27–29}, v práci Quaiserové-Mockové^{24,30} a Cvačky¹⁵ pak pro detekci 1-AN, 2-AN, 1-OHN a 2-OHN s použitím identického separačního systému, proto mohlo být provedeno srovnání analytických parametrů obou typů detektorů.

Modifikace μCD s měděnou drátkovou elektrodou byla použita pro přímou detekci aminokyselin po jejich HPLC separaci. Ta je velmi žádaná, jelikož aminokyseliny neobsahující aromatické jádro nedostatečně absorbují UV

záření při běžně používaných vlnových délkách, a proto se k jejich zviditelnění využívá před- či pokolonové derivatizace s následnou UV či fluorescenční detekcí³¹. Přímou lze aminokyseliny detegovat pouze UV zářením při 200 nm (cit.³²) a elektrochemickými metodami. Jelikož přímo je možno oxidovat pouze některé aromatické kyseliny, např. tyrosin a tryptofan a jejich deriváty, využívá se komplexační reakce aminokyselin s měďnatými ionty¹². Potenciometrická detekce využívá změn potenciálu měděné elektrody způsobené tvorbou komplexu měďnatých iontů ve vrstvě oxidů na povrchu elektrody. Její hlavní nevýhodou je nelineární průběh kalibračních křivek a nižší citlivost ve srovnání s ampérometrickou detekcí. Při té se registruje zvýšení proudu, které je způsobeno usnadněným rozpouštěním hydratovaných oxidů na povrchu mědi v přítomnosti komplexačního činidla. Aminokyseliny lze takto detegovat pouze v neutrálním a zásaditém prostředí³¹. Bylo zkonstruováno již několik typů měděných ampérometrických detektorů. Měděná disková elektroda byla použita pro detekci aminokyselin jak ve FIA (cit.³³), tak ve spojení s HPLC a $\mu\text{-HPLC}$ (cit.³¹). Popsána byla i detekce aminokyselin s využitím detektoru s měděnými dráty a spojení $\mu\text{-HPLC}$ s měděnou tubulární elektrodou³⁴.

Konstrukce detektoru

Pracovní elektroda μCD byla zhotovena velmi jednoduše – teflonová kapilára přímo napojená na výstup z kolony byla v blízkosti konce přičně propíchnuta ostrou jehlou a vzniklým otvorem byl protažen tenký drátek z platiny (průměr 0,1 mm) či mědi (průměr 0,2 mm). Drátek byl v kapiláře fixován tavným lepidlem, které rovněž izolovalo drátek na bocích kapiláry od styku s roztokem. Do kontaktu s analytem tak přichází pouze ta část drátku uvnitř teflonové kapiláry, jejíž plocha je dána jeho průměrem a délkou rovnou vnitřnímu průměru použité teflonové kapiláry. Kapilára s pracovní elektrodou byla spolu



Obr. 1. Ampérometrický detektor s mikrocyklindrickou pracovní elektrodou pro HPLC; 1 – výstup z kolony (PTFE kapilára 1/16" vnější průměr, 0,010" vnitřní průměr, Alltech); 2 – detektor, integrální část trubičky: a – teflonová kapilára, b – Pt (Cu) drátek, c – tavné lepidlo; 3, 4 – pomocná a referentní elektroda; 5 – potenciostat a ampérmetr; 6 – roztok elektrolytu; 7 – odtap

s referentní Ag/AgCl (1 mol L⁻¹) a platinovou pomocnou elektrodou umístěna volně do přepadové nádoby (obr. 1). Nově připravená platinová mikrocyklindrická elektroda byla aktivována v 5·10⁻² mol L⁻¹ H₂SO₄ střídavým vkládáním potenciálu -0,3 a +1,4 V po dobu 10 s. Měděná mikrocyklindrická elektroda byla krátce opláchnuta v 5 mol L⁻¹ HNO₃ a před každou sérií experimentů udržována 5 min při potenciálu -300 mV a nejméně 15 min při +150 mV v průtoku mobilní fáze. Při použití teflonové kapiláry o vnitřním průměru 0,254 mm (0,010") byla geometrická plocha platinové elektrody 0,08 mm² a měděné 0,16 mm².

Ampérometrický detektor s platinovou mikrocyklindrickou elektrodou pro HPLC

Pracovní charakteristiky detektoru

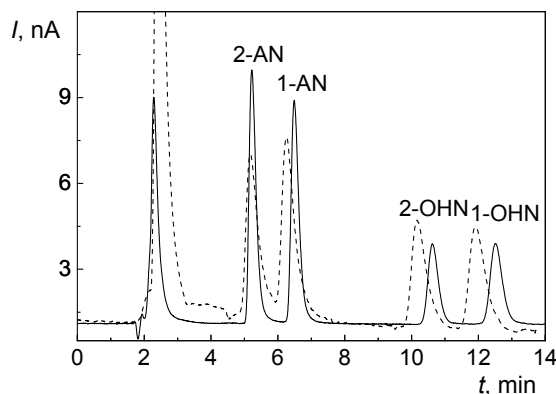
Pracovní charakteristiky Pt-μCD detektoru byly určeny pomocí 1-AN ($c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹) v mobilní fázi obsahující směs imidazolu s acetonitrilem (dle práce Cvačky¹⁵) a porovnány s analogickými výsledky získanými na Pt-TD. Retenční čas 1-AN v použitém systému byl 6,9 min, parametry píku získané z deseti opakovaných nástřiků jsou shrnuty v tabulce I. Zatímco hodnoty pološířky, počtu teoretických pater a relativní směrodatné odchylky pro výšku i plochu píků jsou téměř totožné, proudové hustoty se výrazně liší. To je způsobeno rozdílnou geometrií detektorů. Zatímco v případě Pt-μCD je doba kontaktu analytu s pracovní elektrodou dána v zásadě šířkou zóny analytu, při tubulárním uspořádání je zóna ve styku s platinovou trubičkou po čas daný její délkou. To vede

Tabulka I

Srovnání parametrů ampérometrického detektoru s platinovou tubulární (Pt-TD)¹⁵ a mikrocyklindrickou (Pt-μCD) elektrodou. Parametry zjištěny pro analýzu 1-aminonaftalenu (nástřik 5 μl, $c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹, $E_{det} = +0,9$ V, mobilní fáze KCl (0,1 mol L⁻¹), imidazol (1·10⁻² mol L⁻¹), pH 7,5 – acetonitril (1:1, v/v), $F_m = 0,5$ mL min⁻¹

Parametr	Pt-μCD	Pt-TD (cit. ¹⁵)
Šířka píku, $w_{1/2}$, min	0,236 ± 0,003 ^a	0,247 ± 0,002 ^a
Počet teor. pater N	4785 ± 108 ^a	4720 ± 80 ^a
Asymetrie píku	1,23 ± 0,2 ^a	1,57 ± 0,3 ^a
RSD ^b – výška píku, %	0,44	0,45
RSD ^b – plocha píku, %	0,85	0,94
Plocha elektrody, mm ²	0,08	0,6
Proudová hustota, nA mm ⁻²	18,3	93,3
Šum, pA	25 ± 3	105 ± 14
Poměr signál/šum	58,5	533

^a Směrodatná odchylka, ^b relativní směrodatná odchylka



Obr. 2. Separace směsi 1-aminonaftalenu, 2-aminonaftalenu, 1-hydroxynaftalenu a 2-hydroxynaftalenu. Mobilní fáze acetonitril – 0,01 mol L⁻¹ fosfátový pufr pH 2,3 (40:60, v/v), $F_m = 0,5$ mL min⁻¹. Detekce na Pt-μCD (—), konc. $c = 1 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹; detekce na Pt-TD (---), koncentrace $c = 1 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ pro každý analyt ve směsi, $E_{det} = +1,2$ V

k vyšší proudové hustotě, zároveň však i k chvostování píků pro Pt-TD, jak dokládá vyšší hodnota pro asymetrii píku 1-AN v tabulce I a obr. 2, který ukazuje chromatogram směsi 1-AN, 2-AN, 1-OHN a 2-OHN. Chvostující píky detekované Pt-TD pro $c = 1 \cdot 10^{-6}$ mol L⁻¹ jsou srovnatelně vysoké s píky naměřenými Pt-μCD ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ mol L⁻¹), který ovšem vykazoval nižší šum, v souladu s menší plochou detektoru. Výsledný poměr signál/šum pro 1-AN je téměř desetkrát vyšší pro tubulární uspořádání.

Separace amino a hydroxyderivátů naftalenu a koncentrační závislosti

Pt-μCD byl dále použit pro detekci 1-AN, 2-AN, 1-OHN a 2-OHN po jejich separaci HPLC. V mobilní fázi dle Quaiserové-Mocko²⁴ obsahující 0,01 mol L⁻¹ fosfátový pufr pH 2,3 – acetonitril (40:60, v/v) při průtokové rychlosti 0,5 ml min⁻¹ je směs separována během 14 min a retenční faktory jednotlivých složek směsi jsou 2,02 (2-AN); 2,75 (1-AN); 10,62 (2-OHN) a 12,52 (1-OHN). Optimální detekční potenciál +1,2 V byl stanoven na základě hydrodynamických voltamogramů, při vyšších detekčních potenciálech docházelo k driftování základní linie. Pro všechny analyty ve směsi byly proměřeny kalibrační závislosti v rozsahu 1·10⁻⁷ mol L⁻¹ až 1·10⁻⁴ mol L⁻¹, horním limitem lineárního dynamického rozsahu je koncentrace 6·10⁻⁵ mol L⁻¹. Při vyšších koncentracích docházelo při opakovaných nástřicích k poklesu odezvy detektoru, způsobenému zřejmě pasivací elektrody. Oxidací hydroxy a aminoderivátů aromatických uhlovodíků vznikají polymerní filmy, které jsou při vyšší koncentraci analytu z elektrody odstraněny až po delším omývání mobilní fází. V tabulce II jsou shrnuty parametry kalibračních závislostí získané z ploch píků (vyšší korelační koeficienty v porovnání s vyhodnocením z výšky píků) spolu s limity detekce. Ty jsou sice řádově

Tabulka II

Parametry kalibračních závislostí pro stanovení testovaných látek: A – Amino a hydroxyderiváty naftalenu: HPLC separace a detekce na Pt- μ CD, $E_{\text{det}} = +1,2$ V. Dávkováno 20 μL směsi, mobilní fáze 0,01 mol L⁻¹ fosfátový pufr pH 2,3 – acetonitril (60:40, v/v), $F_m = 0,5$ mL min⁻¹. B – Aminokyseliny: HPLC separace a detekce na Cu- μ CD, $E_{\text{det}} = +0,1$ V. Dávkováno 20 μL směsi, mobilní fáze 0,025 mol L⁻¹ NaH₂PO₄, pH 6,8 – methanol (90:10, v/v), $F_m = 1$ mL min⁻¹. C – Hydroxyderiváty naftalenu: CZE separace a detekce na BDD mikroelektrodě, $E_{\text{det}} = 0,95$ V. Separační pufr 0,04 mol L⁻¹ borátový pufr, pH 9,2

Analyt	Lineární dynamický rozsah [mol L ⁻¹]	Směrnice [$\mu\text{A s mol}^{-1}$ L]	Úsek [nA s]	Korelační koeficient	LOD [mol L ⁻¹]
<i>A – HPLC separace, detekce Pt-μCD^a</i>					
2-AN	$1 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$	$15,48 \cdot 10^3$	0,56	0,9995	$7,8 \cdot 10^{-8}$
1-AN	$1 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$	$11,84 \cdot 10^3$	1,03	0,9983	$1,1 \cdot 10^{-7}$
2-OHN	$2 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$	$7,18 \cdot 10^3$	-0,17	0,9995	$2,5 \cdot 10^{-7}$
1-OHN	$2 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5}$	$7,59 \cdot 10^3$	1,12	0,9984	$2,8 \cdot 10^{-7}$
<i>B – HPLC separace, detekce Cu-μCD^b</i>					
His	$1 \cdot 10^{-3} - 2 \cdot 10^{-6}$	237,39	1,13	0,9983	$1,4 \cdot 10^{-6}$
Val	$1 \cdot 10^{-2} - 4 \cdot 10^{-6}$	45,76	1,06	0,9995	$4,3 \cdot 10^{-6}$
Phe	$1 \cdot 10^{-2} - 4 \cdot 10^{-6}$	38,49	0,69	0,9997	$6,7 \cdot 10^{-6}$
Trp	$1 \cdot 10^{-2} - 6 \cdot 10^{-6}$	26,69	-0,32	0,9999	$1,2 \cdot 10^{-5}$
<i>C – CE separace, detekce BDD mikroelektroda^a</i>					
2-OHN	$9 \cdot 10^{-8} - 4 \cdot 10^{-5}$	62,22	0,16	0,9994	$9,0 \cdot 10^{-8}$
1-OHN	$9,5 \cdot 10^{-8} - 4 \cdot 10^{-5}$	67,80	0,24	0,9997	$9,5 \cdot 10^{-8}$

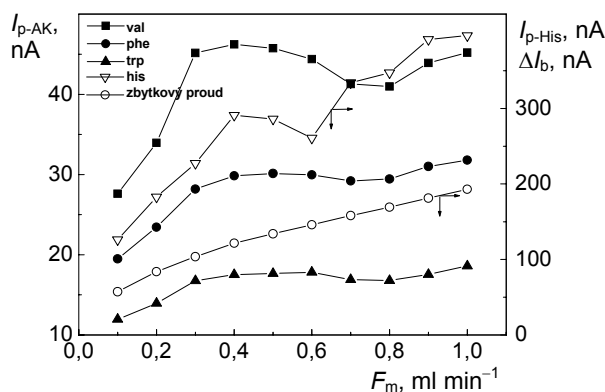
^a Vyhodnoceno z ploch píků, ^b vyhodnoceno z výšek píků, tudíž směrnice uvedena v [$\mu\text{A mol}^{-1}$ L] a úsek uveden v [nA]

vyšší pro Pt- μ CD než detekční limity získané pro téže látky s použitím Pt-TD ($1,8 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹; $1,7 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹; $5,3 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹ a $4,5 \cdot 10^{-8}$ mol L⁻¹ pro 1-AN, 2-AN, 1-OHN a 2-OHN)²¹, dokazují však použitelnost konstrukčně jednoduchého Pt- μ CD pro poměrně selektivní detekci těchto polutantů.

Ampérometrický detektor s měděnou mikrocyklindrickou elektrodou pro HPLC

Vliv průtokové rychlosti mobilní fáze

Pracovní charakteristiky Cu- μ CD byly sledovány pro histidin a modelovou směs obsahující valin, fenylalanin a tryptofan, jelikož tyto látky lze snadno separovat na reverzních fázích^{31,33}. Vzhledem k povaze elektrodového děje ovlivněného kinetikou komplexační reakce aminokyselin je zajímavé sledovat i vliv průtokové rychlosti mobilní fáze na odezvu detektoru. Z naměřené závislosti odezvy detektoru na průtokové rychlosti mobilní fáze v rozmezí 0,1 až 1 mL min⁻¹ (obr. 3) je zřejmé, že s rostoucí průtokovou rychlostí stoupá odezva detektoru pro všechny aminokyseliny, což svědčí o převažujícím příspěvku konvektivního transportu látek k povrchu elektrody. Nápadná je vyšší citlivost detektoru na histidin ve srovnání s ostatními studovaný-



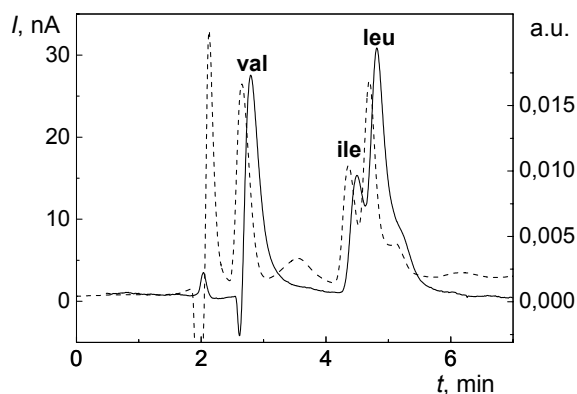
Obr. 3. Závislost odezvy detektoru na průtokové rychlosti mobilní fáze F_m (fosfátový pufr 0,025 mol L⁻¹ NaH₂PO₄, pH 6,8 – methanol, 9:1 (v/v)) pro histidin ($I_{p-\text{His}}$) a valin, fenylalanin a tryptofan ($I_{p-\text{AK}}$). Dávkováno 20 μL . Koncentrace jednotlivých aminokyselin $5 \cdot 10^{-4}$ mol L⁻¹, $E_{\text{det}} = +0,1$ V. Zbytkový proud ΔI_b vyhodnocen jako $\Delta I_b = I - I_0$, kde I odpovídá zbytkovému proudu při dané průtokové rychlosti a I_0 za statických podmínek

mi aminokyselinami. To může být dáno odlišnou strukturou komplexu histidinu s Cu²⁺, na kterém se podílí dusík imida-

zolového jádra a α -amino dusík, a který má vyšší rychlostní konstantu vzniku než komplexy ostatních aminokyselin³⁵. Přechodné snížení odezvy detektoru v rozmezí 0,4–0,6 mL min⁻¹ je patrně způsobeno hydrodynamickými parametry detektoru. Předpokládáme, že při průtokové rychlosti odpovídající hraně poklesu se za drátkem tvoří průtokový stín, takže při detekci není aktivní celá plocha elektrody.

Pracovní charakteristiky detektoru, koncentrační závislosti

Zvýšená citlivost detektoru vůči histidinu je zřejmá i z parametrů kalibračních závislostí, které jsou opět uvedeny v tabulce II. Závislosti jsou lineární v celém měřeném rozsahu a dosažené meze detekce jsou řádově srovnatelné s ostatními konstrukčními typy detektorů s měděnými elektrodami a s přímou UV detekcí. Vyšší detekční limity ve srovnání s Pt- μ CD jsou způsobeny vyšším šumem elektrody (0,25 nA při $E_{det} = +0,1$ V). Zvýšené hodnoty šumu jsou způsobeny rozpouštěním vlastního elektrodového materiálu při vložení kladného potenciálu na měď. Rozdílný princip detekce vede k vyšší hodnotě zbytkového proudu pro Cu- μ CD (1300 nA) ve srovnání s Pt- μ CD (110 nA). Opakovatelnost pro 10 nástřiků 1.10^{-3} mol l⁻¹ fenylalaninu vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou byla 0,94 %. V průběhu dlouhodobého užívání detektoru však bylo pozorováno, že dochází k poklesu odezvy detektoru, který je způsoben postupným rozpouštěním elektrody. Vzhledem k současnému poklesu zbytkového proudu a snižování šumu detektoru však nejsou ovlivněny detekční limity. Elektrodu lze elektrochemicky regenerovat vyloučením mědi na jejím povrchu z 0,1 mol l⁻¹ roztoku CuSO₄ při konstantním potenciálu -0,3 V, vzhledem k nízkým výrobním nákladům detektoru však tato možnost není příliš důležitá. O použitelnosti detektoru ve farmaceutických analýzách svědčí obr. 4, kde je chromatogram infuzního roztoku obsahujícího valin, leucin a isoleucin při



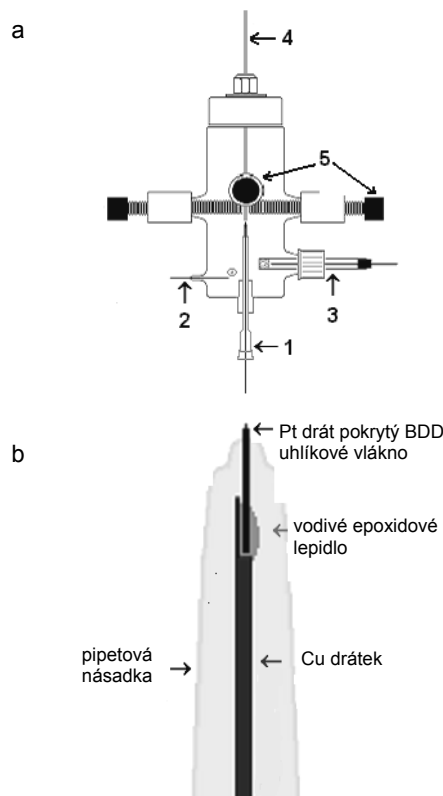
Obr. 4. Chromatogram infuzního roztoku „Nutramin® VLI“ v mobilní fázi 0,025 mol l⁻¹ NaH₂PO₄; pH 6,8 – methanol (2,5 %). Dávkováno 20 μ L, průtoková rychlost 1 mL min⁻¹. Detekce na Cu- μ CD (—) ($E_{det} = +0,1$ V) a přímá UV detekce (---) ($\lambda = 200$ nm)

detekci na Cu- μ CD ve srovnání s přímou UV detekcí při 200 nm. Neidentifikované píky viditelné v UV chromatogramu svědčí o nižší selektivitě UV detekce ve srovnání s Cu- μ CD. Ačkoliv v tomto případě nebyla prováděna kvantifikace analytů, ze srovnání detekčních limitů pro analyty studované v předchozí kapitole vyplývá, že Cu- μ CD je dostatečně citlivým a selektivním detektorem pro tento druh analýzy.

Ampérometrický detektor s diamantovou mikroelektrodou dopovanou bórem pro kapilární elektroforézu

Konstrukce detektoru

Elektrochemická detekční cela pro detekci za kolony v CZE byla realizována s pracovní elektrodou z diamantu dopovaného bórem (BDD). Tento materiál se oproti ostatním formám uhlíku používaných pro CE-EC (skelný uhlík, uhlíková vlákna, porézní grafit) vyznačuje mimořádnou stabilitou, neboť jeho povrch je terminován vodíkem, tudíž



Obr. 5. Elektrochemická detekční cela pro detekci na konci kolony v CZE (a) a detail pracovní elektrody (b); 1 – pipetová násadka se zatavenou pracovní elektrodou, 2 – referenční elektroda (Ag/AgCl, 3 mol l⁻¹ KCl, nasycený AgCl), 3 – pomocná Pt elektroda, 4 – separační kapilára, 5 – šrouby v navzájem kolmé pozici sloužící k přesnému nastavení konce separační kapiláry proti pracovní elektrodě

má podobnou strukturu jako alkany a má jen velmi nízkou tendenci adsorbovat polární sloučeniny z roztoku. Dalšími klady BDD elektrod je široké potenciálové okno ve vodných prostředích, nízké zbytkové proudy a dlouhodobá stabilita odezvy^{36–38}.

Problémem pro využití BDD elektrod v CE zůstává miniaturizace, jelikož BDD filmy se zpravidla připravují již zmíněnou metodou CVD (cit.³⁷) na vhodný nosič. Běžně používané planární křemikové destičky nejsou pro miniaturizaci příliš vhodné, vhodnějším substrátem se ukázaly být platinové drátky o průměru 10–76 μm , které je možné při vložení střídavého napětí na Pt drátek symetricky umístěný do roztoku 1 mol L^{-1} KOH mezi čtyři uhlíkové elektrody vyleptat do špičky^{24–26}. Takto upravený Pt drátek o průměru 76 μm byl použit i v našem případě, plocha elektrody byla vymezena manuálním stlačením polypropylenové násadky kolem špičky elektrody po jejím zahřátí a její hodnoty dosahovaly velikosti $1,5 \cdot 10^{-2}$ – $4,5 \cdot 10^{-2}$ mm^2 . Detail BDD pracovní mikroelektrody ukazuje obr. 5, její umístění v cele pro detekci za kolonou je zřejmé ze schématu A. BDD elektroda byla proti konci kapiláry nastavována manuálně s pomocí mikroskopu do vzdálenosti cca 20 μm .

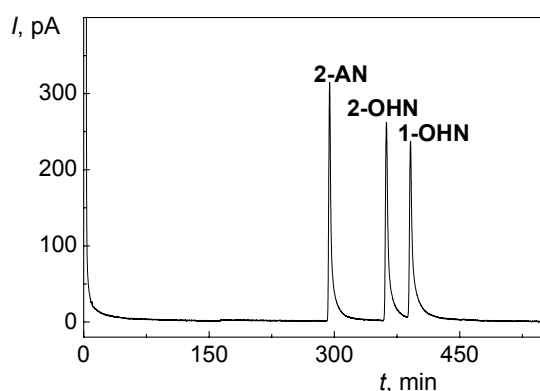
Charakteristika pracovních parametrů detektoru

Parametry elektrochemické detekce na BDD mikroelektrodě byly porovnávány při analýze modelové směsi obsahující 2-AN, 2-OHN a 1-OHN. Kapilára o vnitřním průměru 30 μm byla vybrána na základě předchozích experimentů s katecholem, kdy byly zaznamenávány jeho cyklické voltamogramy na BDD v detekční cele rychlostí 100 mV s^{-1} při napětí 0–20 kV vložném na kapiláru. S rostoucím napětím se posouval oxidační pík katecholu až o ~ 220 mV při 20 kV pro kapiláru s vnitřním průměrem 75 μm , pro 30 μm kapiláru činil tento posun pouze ~ 40 mV (cit.²⁶). Separace byla realizována v 0,04 mol L^{-1}

borátovém pufru pH 9,2, který umožňuje dělení 1-OHN ($\text{p}K_a$ 9,34) a 2-OHN ($\text{p}K_a$ 9,51), 2-AN není v tomto prostředí ionizován ($\text{p}K_a$ 4,16) (cit.³⁹) a je unášen elektroosmotickým tokem, jehož pohyblivost je $5,4 \cdot 10^{-4}$ $\text{cm}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1}$. Z hydrodynamických voltamogramů studovaných látek byl určen optimální detekční potenciál +0,90 V. Typické hodnoty zbytkového proudu na BDD mikroelektrodě při tomto potenciálu dosahovaly 20–80 pA, hodnoty šumu se pohybovaly v rozmezí 0,6–1,2 pA. Jejich kolísání svědčí o tom, že k sledovanému šumu významným podílem přispívají elektrické obvody řídicích jednotek, které se tak v miniaturizovaných detekčních systémech mohou stát faktorem omezujícím detekční limity. Z obr. 6 znázorňujícího typický elektroferogram směsi 2-AN, 1-OHN a 2-OHN je zřejmé dostatečné rozlišení analytů i při mírném chvostování píků. To je častým problémem při detekci na konci kolony v CE, neboť dochází k rozmývání zóny analytu mezi koncem separační kapiláry a indikační elektrodou. Zjištěná separační účinnost (počet teoretických pater na metr kapiláry ($N = 5,54 \cdot (t_{\text{mig}}^2 / w_{1/2}^2)$), tj. 152 000 (2-AN), 160 000 (2-OHN), 186 000 (1-OHN)) je tak podhodnocena vzhledem ke skutečným parametrům kapiláry. Bylo zjištěno, že píky získané na elektrodách s menší plochou než $2,4 \cdot 10^{-2}$ mm^2 , u kterých je exponována pouze kuželovitá část konce, vykazují menší chvostování při zachování stejné citlivosti. Proto je důležité nalézt reprodukovatelnou metodu izolace elektrod, což ovšem v miniaturizovaném měřítku s omezenými možnostmi mechanicky řízené manipulace není snadné. Parametry kalibračních závislostí pro 1- a 2-OHN jsou shrnuty v tabulce II, dosažené limity detekce, počítané pro hodnotu šumu 0,9 pA jsou mírně nižší ve srovnání s HPLC – Pt- μCD . Na druhé straně opakovatelnost dosažená na BDD je 3,9–4,5 % pro všechny studované analyty, téměř pětinašobek hodnot dosahované s μCD elektrodami, což lze přisuzovat výše zmíněnému rozmývání mezi kapilárou a BDD elektrodou. Vyšší hodnoty ($\sim 11\%$) reprodukovatelnosti naměřené pro pět různých elektrod poukazují na další problém detekce na konci kapiláry v CE – nutnost reprodukovatelného vzájemného postavení kapiláry a indikační elektrody.

Závěr

V práci byly představeny dva ampérometrické detektory s miniaturizovanými pracovními elektrodami. Platínová varianta jednoduchého detektoru založeného na mikrocylindrické elektrodě byla použita pro detekci vybraných amino a hydroxyderivátů naftalenu. Ve srovnání s dříve vyvinutým tubulárním detektorem je výhodou Pt- μCD menší chvostování píků, nižší citlivost nemusí být omezujícím faktorem vzhledem k běžné extrakci a prekoncentraci při analýzách biologických a environmentálních vzorků. Hydrodynamické procesy vyvolané umístěním drátku v kapiláře jsou dobře zřejmé při detekci aminokyselin na měděné variantě detektoru. Při vyšších průtokových rychlostech je odezva detektoru řízena konvektivní difuzí, při



Obr. 6. Elektroferogram směsi 2-aminonaftalenu ($c = 5 \cdot 10^{-6}$ mol L^{-1}), 2-hydroxy-naftalenu a 1-hydroxy-naftalenu ($c = 1 \cdot 10^{-5}$ mol L^{-1}) v 0,04 mol L^{-1} borátovém pufru, pH 9,2. Detekce na BDD mikroelektrodě, $E_{\text{det}} = +0,95$ V

nižších průtokových rychlostech by se prodloužila doba, po níž je analyt ve styku s měděnou elektrodou, což by mělo za následek vzrůst proudu a mohlo vést ke zvýšení citlivosti detektoru např. při použití v μ HPLC (cit.³¹). Atraktivní možností pro tento typ detektoru by mohlo být využití elektrokatalytické oxidace aminokyselin na Cu elektrodách v zásaditých prostředích, které otevírá možnosti kombinace Cu detektorů např. s FIA či CE (cit.^{40,41}). Ampérometrický detektor s BDD mikroelektrodou použitý v kombinaci s CZE vykazoval ve srovnání s μ CD vyšší hodnoty opakovatelnosti, což je dáno specifiky detekce na konci kolony. V porovnání s Pt- μ CD bylo však dosaženo nižších detekčních limitů pro studované hydroxy-naftaleny a design pracovní elektrody naskýtá možnost budoucího uplatnění v CE separacích na čipu.

K. P. děkuje Hlávkově Nadaci za finanční příspěvek k pobytu na Michigan State University, J. B. děkuje za finanční podporu Grantové agentuře České republiky (grant 203/03/0182) a G. M. S. děkuje grantu NIGMS, GM 065958-01.

LITERATURA

- Manz A., Graber N., Widmer H. M.: *Sensors Actuators B* 7, 199 (1990).
- Ruzicka J.: *Analyst* 125, 1053 (2000).
- Vilkner T., Janasek D., Manz A.: *Anal. Chem.* 76, 3373 (2004).
- Reyes D. R., Iossifidis D., Auroux P. A., Manz A.: *Anal. Chem.* 74, 2623 (2002).
- Auroux P. A., Iossifidis D., Reyes D. R., Manz A.: *Anal. Chem.* 74, 2637 (2002).
- Erikson D., Li D.: *Anal. Chim. Acta* 507, 11 (2004).
- Uchiyama K., Nakajima H., Hobo T.: *Anal. Bioanal. Chem.* 379, 375 (2004).
- Chmelík J.: *Chem. Listy* 99, 883 (2005).
- Herick K.: *Chem. Listy* 99, 906 (2005).
- Grym J., Foret F.: *Chem. Listy* 99, 915 (2005).
- Fister J. C., Jacobson S. C., Davis L. M., Ramsey J. M.: *Anal. Chem.* 70, 431 (1998).
- Štulík K., Pacáková V.: *Elektroanalytická měření v proudících kapalinách*. SNTL, Praha 1985.
- Pérez-Olmos R., Soto J. C., Zárate N., Araújo A. N., Montenegro M. C. B. S. M.: *Anal. Chim. Acta* 554, 1 (2005).
- Matysik F.-M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 375, 33 (2003).
- Cvačka J., Opekar F., Barek J., Zima J.: *Electroanalysis* 12, 39 (2000).
- Warner M.: *Anal. Chem.* 66, 601A (1994).
- Lacher N. A., Garrison K. E., Martin R. S., Lunte S. M.: *Electrophoresis* 22, 2526 (2001).
- Matysik F.-M.: *Electroanalysis* 12, 1349 (2000).
- Wallingford R. A., Ewing A. G.: *Anal. Chem.* 59, 1762 (1987).
- Huang X., Zare R. N., Sloss S., Ewing A. E.: *Anal. Chem.* 63, 189 (1991).
- Wallenborg S. R., Nyholm L., Lunte C. E.: *Anal. Chem.* 77, 544 (1999).
- Fishbein L.: *The Handbook of Environmental Chemistry: Anthropogenic compounds*, Vol. 3, Part C, str. 1–40. Springer Verlag, Berlin 1984.
- Barek J., Mejstřík V., Muck A., Zima J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 30, 37 (2000).
- Mocko V.: *Disertační práce*. UK PČF, Praha 2004.
- Muna G. W., Quaiserova-Mocko V., Swain G. M.: *Electroanalysis* 17, 1160 (2005).
- Cvačka J., Quaiserová V., Park J., Show Y., Muck A. Jr., Swain G. M.: *Anal. Chem.* 75, 2678 (2003).
- Hříbal Z.: *Diplomová práce*. UK PČF, Praha 2001.
- Smutná K.: *Diplomová práce*. UK PČF, Praha 2001.
- Vaingátová S.: *Diplomová práce*. UK PČF, Praha 2002.
- Quaiserová V., Zima J., Barek J.: *Chem. Listy* 94, 1014 (2000).
- Kok W. T., Brinkman U. A. T., Frei R. W.: *J. Chromatogr.* 256, 17 (1983).
- Molnár I., Horváth C.: *J. Chromatogr.* 142, 623 (1977).
- Kok W. T., Hanekamp H. B., Bos P., Frei R. W.: *Anal. Chim. Acta* 142, 31 (1982).
- Štulík K., Pacáková V., Weingart M.: *J. Chromatogr.* 367, 311 (1986).
- Alexander P. W., Maitra C.: *Anal. Chem.* 53, 1590 (1981).
- Hubert M., Muck A., Wang J., Stotter J., Cvačková Z., Haymons S., Show Y., Swain G. M.: *Diamond Relat. Mater.* 12, 1940 (2003).
- Shin D., Sarada B. V., Tryk D. A., Fujishima A., Wang J.: *Anal. Chem.* 75, 530 (2003).
- Cvačka J., Swain G. M., Barek J., Zima J.: *Chem. Listy* 96, 33 (2002).
- Weast R. C. (ed.): *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 67. vydání, D160-162. CRC Press, Boca Raton 1987.
- Luo P., Zhang F., Baldwin R. P.: *Anal. Chem.* 63, 1702 (1991).
- Ye J., Baldwin R. P.: *Anal. Chem.* 66, 2669 (1994).

K. Pecková^a, V. Mocko^b, F. Opekar^a, G. M. Swain^b, J. Zima^a, and J. Barek^a (^a UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague; ^b Department of Chemistry, Michigan State University, East Lansing, USA): **Miniaturized Amperometric Detectors for HPLC and Capillary Zone Electrophoresis**

This study was devoted to the characterization and use of two types of laboratory-made miniaturized amperometric detectors. First, an amperometric microcylindrical detector (μ CD) for HPLC is described. It is based on a microwire working electrode placed across the flow of mobile phase in Teflon tubing connected directly to the column outlet. The Pt- μ CD was employed for the detec-

tion of selected hydroxy and amino derivatives of naphthalene. The repeatability of the detector response is satisfactory ($< 1\%$) in the concentration range $2 \cdot 10^{-7} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ and detection limits achieved were $7.8 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, $1.1 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, $2.5 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ and $2.8 \cdot 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ for 1-naphthylamine, 2-naphthylamine, 1-naphthol, and 2-naphthol, respectively. The Cu- μ CD was used as a selective detector for the HPLC analysis of selected amino acids, based on their complexation reaction with Cu^{2+} from Cu microwire electrode. Due to a different electron transfer principle, the detector shows a higher background current and noise than Pt- μ CD; nevertheless, it enables the detection of amino acids with limits of detection in the range $1.4 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ (histidine) to $1.2 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ (tryptophan). Second, an amperometric detector with boron-doped diamond micro-

electrode connected to capillary zone electrophoresis was employed for the detection of 2-naphthylamine, 1-naphthol and 2-naphthol in column. The microelectrode was fabricated by coating electrochemically sharpened platinum wires with thin films of polycrystalline boron-doped diamond. The calculated electrode areas were $(1.5-4.5) \cdot 10^{-2} \text{ mm}^2$. The diamond microelectrodes exhibited good electroanalytical performance with a low peak-to-peak noise $\sim 1 \text{ pA}$, low and stable background current and repeatable responses for studied analytes. Limits of detection for 1- and 2-naphthol were established as $9.5 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ and $9.0 \cdot 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$, respectively. Stable response of all the working electrodes described and their small dimensions are promising for their possible use in micro-HPLC or capillary electrophoresis in microchip format.

Český svaz vědeckotechnických společností k 1. lednu tohoto roku

vyhlašuje

„Soutěž mladých odborníků o cenu ČSVTS“.

Protože odborné zaměření členských společností Svazu je velmi široké, není téma soutěže specifikováno, mělo by se však samozřejmě dotýkat problémů technických oborů.

Soutěž je určena zájemcům do 35 let. Nejlepší práce bude odměněna částkou 100 000 Kč.

Bližší informace o soutěži naleznete na www.csvts.cz