



Doctoral Thesis

Qualitative und quantitative Analyse von Kationen und Anionen mit ionenselektiven Detektoren in der Kapillarelektrophorese

Author(s):

Nann, André

Publication Date:

1994

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001388190> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 10844

**Qualitative und quantitative Analyse von Kationen
und Anionen mit ionenselektiven Detektoren
in der Kapillarelektrophorese**

ABHANDLUNG
zur Erlangung des Titels
DOKTOR DER NATURWISSENSCHAFTEN
der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZÜRICH

vorgelegt von
André Nann
dipl. Chem. ETH
geboren am 26. Nov. 1965
von Basel (BS)

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. E. Pretsch anstelle von
Prof. Dr. W. Simon, Referent
Prof. Dr. U. Wild, Korreferent

Zürich 1994

Hartung-Gorre Verlag

Zusammenfassung

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden ionenselektive Flüssigmembran-Mikroelektroden als potentiometrische Detektoren für die quantitative Analyse von Kationen und Anionen in der Kapillarelektrophorese eingesetzt.

Da die verwendeten Mikroelektroden wegen ihres hohen Innenwiderstandes sehr empfindlich auf elektrische Felder reagieren, galt es, den Einfluss des elektrophoretischen Feldes auf das Elektrodenpotential zu minimieren. Bei Positionierung der Elektroden Spitze in der Kapillaröffnung (*on-column*-Detektion) konnte wegen des starken elektrischen Feldes im Innern des Trennsystems ein beträchtliches Driften und Rauschen des Signals beobachtet werden. Diese Störungen kommen vornehmlich daher, dass sich dem *Nernstschen* Elektrodenpotential ein elektrophoretisches Potential überlagert. Da das Potential im Innern der Kapillare ortsabhängig ist, führen bereits kleine, unter dem Lichtmikroskop nicht sichtbare Verschiebungen oder Vibrationen der Elektroden Spitze zu unzulässigen Störungen. Ein möglicher Lösungsansatz wäre die Detektion ausserhalb der stromdurchflossenen Kapillare (*post-* oder *off-column*-Detektion). Für quantitative Analysen mit maximaler Auflösung kommt allerdings nur die *on-column*-Detektion in Frage, da die Trennleistung ausserhalb des Kapillare sehr rasch abnimmt. Um die Mikroelektroden auch für diese Art der Detektion verwenden zu können, wurde die Öffnung der Kapillare mit Fluorwasserstoffsäure konisch angeätzt. Damit sank die Feldstärke in den letzten 10 μm der Trennkapillare auf ca. $\frac{1}{25}$ des in einem zylindrischen Ende gemessenen Wertes, wodurch das Driften und Rauschen entsprechend reduziert wurden.

Für die quantitative Auswertung wurde das zum Logarithmus der Analytaktivität proportionale Signal der ionenselektiven Mikroelektrode zuerst delogarithmiert und dann über die Zeit integriert. In dieser Weise war es möglich, Kationen und Anionen mit einem Variationskoeffizienten $\leq 5\%$ zu quantifizieren.

Für Trennungen in Kapillaren mit einem Innendurchmesser von 10 μm wurden bei Feldstärken von 60 kV/m Trennleistungen bis 300'000 theoretische Böden erreicht. In Anbetracht der kurzen Analysendauer von nur 2-3 min bedeutet dies für Routineanalysen eine beachtliche Trennstufenrate von bis zu $8 \cdot 10^6/\text{h}$.

Mit Ionenauscherelektroden lassen sich vor allem lipophile Ionen sehr selektiv erfassen. Nach *Nikolsky-Eisenman* würde erwartet, dass die Nachweisgrenze mit zunehmender Selektivität proportional nach tieferen Werten verschoben wird. Diese Annahme konnte experimentell nicht bestätigt werden. Auch für hochselektiv erfassbare Komponenten (Selektivitätskoeffizient bis 10^9) betrug die unterste Nachweisgrenze nur ca. $5 \cdot 10^{-8}$ M, wogegen theoretisch ein Wert von 10^{-13} M abgeschätzt wurde. Diese Diskrepanz zwischen Theorie und Praxis wird damit erklärt, dass die Elektrode bei sehr niedrigen Analytaktivitäten nicht die in der Probelösung anwesenden, sondern die aus der Membran austretenden Ionen misst. Die Potentialmessung erfolgt also nicht im stationären Zustand, sondern während eines kinetisch kontrollierten Prozesses. Hinzu kommt, dass zur Aufrechterhaltung des Eingangstroms der Elektrode nachgeschalteten Spannungsfolgers eine minimale Anzahl Ionen pro Zeiteinheit die Membran passieren muss. Wird der so entstehende Austauschstrom unterschritten, bricht das Potential zusammen.

Beim Einsatz von Mikroelektroden als Detektoren in der Kapillarelektrophorese spielt die Ansprechzeit eine zentrale Rolle. Theoretisch und experimentell wurde gezeigt, dass die verwendeten Mikroelektroden im allgemeinen schnell genug sind, um die in der Kapillarelektrophorese auftretenden Aktivitätsänderungen unverfälscht zu registrieren. Für hochselektiv erfassbare Ionen wurde hingegen teilweise ein stark störendes *tailing* beobachtet, was man auf langsame Diffusionsprozesse sowohl in der Membran als auch zwischen Membran und Messlösung zurückführte.

Im allgemeinen werden ionenselektive Elektroden mit einer Lösung des Messions konditioniert. Bei der Verwendung von potentiometrischen Detektoren hingegen erfolgt die Konditionierung zwangsläufig mit Hintergrundelektrolyt. Obwohl dieser Umstand die Anwendbarkeit von ionenselektiven Detektoren in der Kapillarelektrophorese stark einschränkt, wurde gezeigt, dass in bezug auf Nachweisgrenze und Miniaturisierbarkeit des Trennsystems vielfach bessere Resultate erzielt werden als mit konventionellen Detektionsmethoden (Leitfähigkeit, UV/Vis, Fluoreszenz).

Summary

The present work reports on the application of ion-selective microelectrodes as potentiometric detectors for the qualitative and quantitative analysis of cations and anions separated by capillary electrophoresis (CE).

Due to the high internal resistance of microelectrodes, their potentials are strongly affected by external electrical fields. Therefore, the influence of the electrophoretic field on the electrode response had to be kept at a minimum. With the electrode tip inserted in the capillary aperture (*on-column* detection), heavy drifts and noise of the signals were observed, mainly because the electrophoretic potential is superimposed on the *Nernstian* electrode response. As the potential inside the capillary is site-dependent, already minor movements and vibrations not perceptible under the light microscope cause unacceptable disturbances of the electrode signal. One possibility to solve this problem consists in *post-* or *off-column* detection, i.e., with the detector located outside the influence of the electrophoretic field. If quantitative analyses with maximum resolution are to be achieved, only *on-column* detection is suitable because outside the capillary, the separation efficiency drops drastically. By etching the detector-side capillary end to a conical aperture, the field strength in the last 10 μm fell to approximately $1/25$ as compared with that in a cylindrical one. Thus, potential drifts and noise were reduced correspondingly so that *on-column* detection can also be used for potentiometric detection.

To obtain quantitative results, the signals of the ion-selective detector were first delogarithmized and then integrated over time. Thus, it was possible to quantify cations and anions with a coefficient of variation $\leq 5\%$.

Concerning separations in capillaries of 10 μm inner diameter with an electrophoretic field strength of 60 kV/m, up to 300,000 theoretical plates were achieved. Considering the short analysis time of only 2-3 min, this represents a remarkable separation rate of about $8 \cdot 10^6/\text{h}$.

When using ion exchange microelectrodes as CE detectors, mainly lipophilic ions can be detected with high sensitivity. According to the *Nicolosky-Eisenman* theory, a shift of the detection limit towards lower values is to be expected with increasing selectivity coefficient, but this could not be confirmed experimentally. Even for components that are easily detectable (i.e., with selectivity coefficients of up to 10^9), a detection limit of only $5 \cdot 10^{-8}$ M was obtained, whereas a value of 10^{-13} M had been estimated from theory. This can be explained by the fact that at very low analyte activities, the electrode detects the ions eluted

from the membrane phase rather than those in the sample solution. Thus, the potential is not recorded at a stationary state but is controlled by a kinetic process. In addition, a minimum of ions must pass through the membrane to maintain the input current of the voltage follower connected to the microelectrode. If this minimal current is not guaranteed, the potential breaks down.

When using microelectrodes as CE detectors, the response time plays an important role. In general, the microelectrodes were shown to be fast enough to reliably register the activity changes that occur in capillary electrophoresis. On the contrary, for ions that are detectable with high selectivity, strong tailing was sometimes observed. It was attributed to relatively slow diffusion processes within the membrane as well as between membrane and aqueous solution.

Generally, ion-selective microelectrodes are conditioned in a solution containing the analyte ion. In contrast, the conditioning process of a potentiometric microelectrode detector is determined by the background electrolyte. Although this is a certain drawback to the applicability of ion-selective detectors in capillary electrophoresis, it is shown that, considering the detection limits and the possible miniaturization of the separation system, even better results are achieved than with conventional detection methods (conductivity, UV/Vis, fluorescence).