

ОПТИЧЕСКИЕ ДЕТЕКТОРЫ В ПРИБОРАХ ДЛЯ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Высокоэффективный капиллярный электрофорез (ВКЭ) в последние годы находит все более широкое применение в медицине, экологии, химии, фармацевтике и других областях, традиционно использующих методы аналитической хроматографии. Это обусловлено возможностью достижения высокой чувствительности метода ВКЭ ($10^{-9} \div 10^{-10}$ моль/л) [1] и высокой разрешающей способности (10^6 теоретических тарелок) [2] при супермалом объеме анализируемого вещества ($0.01 \div 0.1$ мкл) и малом расходе высокочистых реактивов, а также простотой эксплуатации и экспрессностью анализа. За рубежом выпуск приборов ВКЭ освоен ведущими в аналитическом приборостроении фирмами, в странах СНГ такие приборы не выпускаются, а только проводится их разработка.

Типичный прибор ВКЭ содержит кварцевый капилляр с внутренним диаметром $10 \div 100$ мкм и наружным $170 \div 360$ мкм. Капилляр с длиной $20 \div 100$ см устанавливается в термостабилизируемом объеме. Концы капилляра погружены в два резервуара с электролитом, которым также заполняется капилляр путем создания перепада гидростатического давления в резервуарах. К резервуарам с электролитом подводится два электрода, на которые в процессе работы прибора подается высокое напряжение $10 \div 30$ кВ при токе до 300 мкА.

Ввод пробы анализируемого вещества в капилляр осуществляется путем замены одного резервуара с электролитом на резервуар с анализируемым веществом и последующим включением на несколько секунд высокого напряжения в $3 \div 5$ раз меньшего, чем при самом разделении (электрокинетический метод). Распространен также гидродинамический метод ввода пробы в капилляр путем создания повышенного гидростатического давления в резервуаре с анализируемым веществом. Объем вводимой пробы, как правило, должен быть не более чем $1 \div 2$ % от общего объема электролита в капилляре, что составляет $1 \div 50$ нл. После ввода пробы вновь устанавливается резервуар с электролитом, и на электроды подается высокое напряжение для разделения пробы. Разделение пробы основано на различии скоростей движения растворенных в электролите частиц под действием электрического поля, причем разделение катионов,

анионов и нейтральных частиц осуществляется при одном анализе. Время анализа пробы в зависимости от характеристик вещества и условий разделения колеблется от 1 до 30 мин. Детектирование разделенных и движущихся по капилляру зон, содержащих различные по своим физическим характеристикам вещества, далее осуществляется на противоположном от ввода пробы конце капилляра. После регистрации последнего пика вещества выполняется промывка капилляра от остатков разделения и его заполнение чистым электролитом для проведения следующего анализа пробы и ее разделения. Весь процесс работы прибора может быть полностью автоматизирован [3].

Детектор в приборах для ВКЭ является одним из основных его узлов, от которого зависят чувствительность анализа и его разрешающая способность. Среди детекторов выделяются два основных типа. Во-первых, детекторы, основанные на регистрации изменения значения какого-либо физического параметра анализируемого вещества от такого же параметра раствора, заполняющего капилляр. Это рефрактометрический детектор, а также детекторы, использующие так называемый непрямой метод регистрации. Второй тип детекторов основан на регистрации специфических характеристик, присущих только детектируемому веществу. Это детекторы, регистрирующие селективное поглощение вещества, растворенного в буферном растворе, или его флуоресценцию, а также спектр комбинационного рассеяния. Детекторы первого типа являются универсальными. Однако они имеют меньшую чувствительность и ограниченный динамический диапазон, так как в этом случае сигнал детектора зависит не от абсолютного значения регистрируемого параметра, а от их различия у анализируемого вещества и основного буферного раствора [4].

В настоящее время наиболее распространены оптические типы детекторов: спектрофотометрический (УФ-детектор), флуориметрический и рефрактометрический. Ниже будет рассмотрен каждый из этих детекторов в отдельности и проведено сравнение их характеристик и областей применения.

Абсорбционные спектрофотометрические детекторы

Этот тип детекторов в выпускаемых приборах для ВКЭ применяется наиболее широко. Он основан на измерении величины оптической плотности анализируемого вещества от ультрафиолетовой до видимой области. Так как зачастую детектирование большинства веществ осуще-

ствляется в ультрафиолетовой области спектра, то в литературе часто используется термин УФ-детекторы.

Малый диаметр капилляра и его цилиндрическая форма определяют специфику конструкции УФ-детектора. В общем виде для малых величин оптической плотности (приблизительно 0.01) величина пропускания I/I_0 описывается выражением [5]:

$$\frac{I}{I_0} = 1 - 2.3kcd, \quad (1)$$

где k - коэффициент молекулярного поглощения, c - концентрация вещества, d - средний оптический путь света в капилляре. В этом случае система регистрации детектора номерует сигнал

$$U \approx f \left(\frac{I}{I_0} - 1 \right), \quad (2)$$

где f - коэффициент усиления системы регистрации.

Шум детектора, определяемый как максимальная амплитуда нулевого сигнала с периодом не более 20 с, можно представить выражением:

$$\Delta U = 2U \frac{\Delta I_0}{I_0}, \quad (3)$$

где ΔI_0 - суммарное изменение интенсивности, определяемое шумом фотоприемника, флуктуациями светового потока УФ-лампы и паразитными шумами оптической системы детектора.

Пороговая чувствительность детектора составляет

$$\delta = 2 + 3\Delta U. \quad (4)$$

Из приведенных выражений видно, что для повышения чувствительности абсорбционных детекторов необходимо использовать малошумящие фотоприемники, повышать интенсивность и стабильность светового потока УФ-лампы, уменьшать величину паразитного свечения оптической системы в целом. Последнее определяется, в основном, двумя факторами:

- а) рассеянием излучения источника на стенках капилляра;
- б) люминесценцией материала стенок капилляра и других оптических деталей под действием УФ-излучения.

Кроме того, чувствительность детектирования можно повысить за счет увеличения длины среднего оптического пути.

Рассмотрим конкретные оптические схемы УФ-детекторов в ВКЭ. В наиболее простом варианте [6] УФ-лампа устанавливается вблизи капилляра. Непосредственно около капилляра располагается диафрагма

круглой или прямоугольной формы. С другой стороны капилляра расположены собирающая оптика, спектральный фильтр и фотоприемник. Используется также вариант проектирования изображения лампы на диафрагму.

В данной оптической схеме важную роль играет соотношение внутреннего диаметра капилляра и размеров диафрагмы. Уменьшение размеров диафрагмы поперек оси капилляра снижает величину паразитных шумов, увеличивает диапазон линейности детектора, но при этом сильно падает I_0 и, следовательно, пороговая чувствительность аппарата. Увеличение этого размера диафрагмы приводит к повышению шумов за счет рассеяния света на стенках капилляра и их люминесценции, но увеличивает I_0 . Однако при использовании хорошей спектральной фильтрации и нелюминесцирующих оптических материалов величину этих шумов можно свести к минимуму. Максимальный размер диафрагмы поперек оси капилляра ограничивается эффектом полного внутреннего отражения света УФ лампы на границе внутренней стенки капилляра.

Размер диафрагмы вдоль оси капилляра определяет разрешающую способность детектора. На практике обычно используют круглые диафрагмы диаметром $50 \div 100$ мкм и прямоугольные размером $50 \div 100$ мкм [6-8].

Второй вариант конструкции оптической системы детектора основан на эффекте фокусировки излучения УФ лампы внутрь канала капилляра [9,10]. Фокусировка осуществляется с помощью шаровой кварцевой линзы, имеющей диаметр 2 мм и минимальный фокус порядка 0.1 мм. Данная линза устанавливается вплотную к стенке капилляра. При этом оптическая система обеспечивает фокусировку светового пучка, падающего на шаровую линзу, во внутренний канал капилляра. После капилляра расходившийся пучок собирающей линзой преобразуется в квазипараллельный и направляется в систему регистрации.

Сравнение этих двух вариантов детекторов показывает, что использование фокусировки излучения позволяет снизить предел обнаружения более чем на порядок [7], расширить динамический диапазон в два и более раз [9]. Это связано с увеличением во втором варианте значения среднего оптического пути d в канале капилляра примерно на 30 % [10] и существенным ростом величины светового потока I_0 через внутренний канал капилляра.

В промышленно выпускаемых приборах для капиллярного электрофореза обычно используются первые два варианта детекторов или их сочетание. Пороговая чувствительность достигает $5 \cdot 10^{-5} \div 10^{-4}$ единиц

оптической плотности (е.о.п.). При детектировании сильно поглощающего вещества с коэффициентом экстинкции 10^6 л/(моль · см) в капилляре с внутренним диаметром 100 мкм и шумом детектирования 10^{-4} е.о.п. концентрационный теоретический предел детектирования вещества будет составлять около 10^{-7} моль/л.

Повышение чувствительности детектора возможно путем увеличения диаметра канала капилляра в зоне детектирования. Такой вариант конструкции предложен в [11], где капилляр диаметром 50 мкм плавно переходит в канал диаметром 150 мкм. Здесь же экспериментально подтверждается отсутствие размыкания пиков вещества при плавном переходе от меньшего диаметра канала капилляра к большему. Достигнуто пятикратное увеличение пороговой чувствительности. Однако использование таких капилляров с участком, на котором внутренний диаметр капилляра увеличен, ведет к существенному сужению ширины пика вдоль капилляра [12]. В таких детекторах предпочтительнее применение лазерных источников излучения.

Кроме просвечивания капилляра кавала, поперек его оси в работах [10,13] предлагаются варианты просвечивания капилляра вдоль оси: U-образный и Z-образный варианты. Оптический путь составил $1 \div 8$ мм, пороговая чувствительность увеличивалась в $10 \div 50$ раз, однако существенно ухудшалась разрешающая способность детектора. В работе [14] предлагается ячейка, позволяющая увеличить оптическую длину, в таком образом увеличить чувствительность в 40 раз. На поверхность капилляра без защитного полимерного покрытия наносится серебряное покрытие. Через одно окно в серебряной пленке вводится излучение He — Ne лазера. После многократных отражений от внутренней поверхности пленки и проходов через внутренний канал с детектируемым веществом луч выходит через второе окно в пленке и регистрируется фотодиодом. Однако применение такой ячейки приводит к расширению детектируемых пиков.

Иногда для подвода и фокусировки оптического излучения во внутренний канал капилляра, а также для сбора прошедшего капилляр излучения используются два оптических волокна с различными диаметрами [15].

Флуорометрические детекторы

Принцип действия флуорометрических детекторов основан на регистрации флуоресценции анализируемого вещества, возбуждаемой мощ-

ным источником светового излучения (лазером или лампой). Флуорометрические детекторы имеют наибольшую чувствительность, и порог обнаружения оценивается величиной $10^{-19} \div 10^{-20}$ моль вещества, что соответствует $10^4 \div 10^5$ молекул [16].

Для капиллярного электрофореза наиболее предпочтителен флуорометрический детектор с лазерным источником возбуждения. Последний, вследствие малой расходимости лазерного луча, легко обеспечивает фокусировку его в пятно диаметром $10 \div 20$ мкм, что соответствует объему детектирования в единицы пиколитров, поэтому и разрешающая способность может быть высокой.

Практическая реализация такого детектора связана с проблемой рассеяния лазерного излучения на стенках капилляра и других оптических деталях, а также их наведенной люминесценцией. Современные фотоприемники обеспечивают регистрацию $10^4 \div 10^5$ фотонов /с, а интенсивность лазерного излучения, сфокусированного в детектируемый объем может составлять $10^{18} \div 10^{20}$ фотонов/с $\cdot$ см². Поэтому оптический тракт должен обеспечивать эффективное подавление рассеяния лазерного излучения и наведенной им люминесценции.

В работе [17] описана типичная оптическая схема флуорометрического детектора. В качестве источника света использовался He - Cd лазер (325 нм, 8 мВт). Лазерный луч фокусировался в пятно диаметром 15 мкм с помощью линзы, фокусное расстояние которой равно 1 см. Капилляр устанавливался под углом Брюстера к падающему лазерному лучу, чтобы уменьшить рассеяние лазерного излучения. Диаметр канала капилляра составлял 15 мкм, а объем детектирования - 3 пиколитра. Излучение флуоресценции собиралось под углом 90° к плоскости лазерный луч-капилляр с помощью десятикратного микроскопного объектива, и далее устанавливались интерференционный фильтр и фотоприемник. Использование хорошего интерференционного фильтра, работающего в параллельном пучке, удается отсечь 99% и более рассеянного лазерного света.

Уменьшить величину рассеяния можно путем использования капилляра с плоскими стенками [18] или помещения цилиндрического капилляра в "футлярную" жидкость, показатель преломления которой близок к показателю преломления материала стенок капилляра [19]. В последнем случае футлярная жидкость должна быть оптически однородной и не должна люминесцировать. Экспериментальное подтверждение преимущества капилляра с плоскими стенками получено в работе [20].

Непрямые оптические детекторы

Известно, что способность люминесцировать под воздействием УФ излучения, а также сильно поглощать УФ излучение имеет ограниченное количество веществ. Поэтому при анализе нелюминесцирующих и слабо поглощающих веществ к ним приходится присоединять химическим путем флуоресцирующие или поглощающие метки, например, дансилхлорид и другие. Однако эта процедура является достаточно сложной и трудоемкой.

В связи с этим интенсивно развиваются непрямые абсорбционные и флуорометрические детекторы. Так, в работе [21] используется не прямое абсорбционное детектирование анионов. В качестве основного буферного раствора применяется раствор бензойной кислоты, поглощающей на длине волны 254 нм. Непоглощающие вещества регистрируются по уменьшению поглощения в результате вытеснения поглощающих свет частиц буферного раствора анализируемыми частицами.

Аппаратура для непрямого флуорометрического детектирования аналогична флуорометрической [17,22]. Детектирование нефлуоресцирующих веществ осуществляется путем регистрации уменьшения флуоресценции частиц буферного раствора при их замещении веществом анализируемой пробы. В этом случае базовая линия смещается вверх, что соответствует люминесценции чистого электролита в зоне детектирования, а при наличии в ней анализируемого вещества уровень регистрируемой люминесценции снижается, что соответствует пикам, идущим вниз. Таким способом хорошо регистрируются ионы металлов, нуклеотиды и др. Концентрационный предел детектирования двуокиси фосфата был достигнут на уровне 10^{-7} моль/л в капилляре с внутренним диаметром 50 мкм и аргоновым лазером в качестве источника возбуждения [22].

Необходимо отметить, что не прямой флуорометрический метод детектирования несколько менее чувствителен по сравнению с прямым методом, однако более чувствителен, чем прямой абсорбционный метод. Основным преимуществом не прямых методов является их универсальность в детектировании любых заряженных частиц. С другой стороны, при анализе очень сложных и составных проб эта универсальность может стать помехой при расшифровке электрофореграмм [23].

Рефрактометрические детекторы

В УФ, видимом и ближнем инфракрасном диапазонах длин волн, находит также применение детектирование по показателю преломления.

Так как детектирование осуществляется прямо в капилляре, то количество возможных для применения в КЭ оптических схем существенно меньше по сравнению с равнообразными детекторами в микроколоночной жидкостной хроматографии. Можно выделить два вида детекторов. Во-первых, рефрактометрические детекторы на основе рефракции лазерного луча при прохождении его через капилляр с исследуемой жидкостью и последующей регистрации интерференционной картины, образованной когерентными лучами, проходящими через внутренний канал капилляра и вне его. Во-вторых, детекторы на основе эффекта отклонения луча при прохождении его через исследуемую жидкость с наведенным в ней продольным градиентом показателя преломления.

Первый тип детекторов описан в работах [24,25]. Детектор содержит $He - Ne$ лазер, последовательно установленные полуволновую и четвертьволновую пластинки для уменьшения влияния отраженного излучения на шум лазера, микрообъектив с фокусным расстоянием 16 мм, капилляр, размещенный вблизи фокальной плоскости, и фотоприемник, установленный на расстоянии порядка 15 см [26]. В области детектирования с поверхности капилляра удаляется защитное покрытие. Лазерный луч лежит в плоскости, перпендикулярной оси капилляра в зоне детектирования, и ось лазерного луча проходит мимо оси капилляра на расстоянии, приблизительно равном внутреннему диаметру капилляра. В области фокусировки лазерный луч имеет диаметр порядка 10 мкм. В этом случае на капилляре наблюдается сложная интерференционная картина, аналогичная картинам при освещении спаружи и регистрации рассеянного лазерного излучения на оптических волокнах со ступенчато изменяющимся показателем преломления [27] и состоящая из множества полос эллипсовидной формы. Фотоприемник с площадью фоточувствительной поверхности 1 мм^2 устанавливался на резкой границе между основным максимумом и первой темной полосой. При изменении показателя преломления жидкости картина меняется, в результате изменяется сигнал на выходе фотоприемника и осуществляется детектирование веществ, движущихся во внутреннем канале капилляра. Чувствительность по показателю преломления в капилляре с внутренним диаметром 100 мкм и наружным диаметром 250 мкм составила $2.8 \cdot 10^{-6}$ [26].

Недостатком, ограничивающим распространение этого типа детекторов, является сложность интерференционной картины, что затрудняет выполнение автоматической юстировки лазерного луча на капилляр при смене капилляра или буферного раствора. Упрощение интерференционной картины достигается использованием в качестве источника излуче-

ния лазерного диода с шаровой линзой [28,29], что позволило создать луч с расходимостью менее 17 мрад и диаметром порядка 10 мкм. Лазерный диод устанавливался таким образом, что после фокусировки сечение луча в области капилляра имело форму эллипса, причем малая ось эллипса перпендикулярна оси капилляра. Интерференционная картина имеет главный максимум с максимальным углом отклонения от первоначальной оси луча и ряд дополнительных максимумов с интенсивностью на уровне $0.1 \div 0.2$ от главного и расположенных ближе к оси луча. Автоматическая юстировка лазерного луча на капилляр и настройка фотоприемника в рабочую точку детектирования выполняется при замене капилляра или буферного раствора. Чувствительность по показателю преломления составляла порядка $5 \cdot 10^{-7}$ [30].

Одним из факторов, существенно сужающих применение рефрактометрических детекторов, является сильная зависимость показателя преломления от температуры на уровне $10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$. При прохождении электрического тока через электролит в капилляре температура электролита может повышаться до значений, на $30 \div 40 \text{ } ^\circ\text{C}$ превышающих температуру окружающего капилляр воздуха [15,31]. Флуктуации температуры электролита могут приводить к флуктуациям плотности жидкости и, следовательно, к флуктуациям показателя преломления [32]. Показано, что минимальные погрешности температуры достигаются при помещении капилляра в термостабилизируемую жидкость [31]. С целью снижения температурных флуктуаций в зоне детектирования капилляр помещается в жидкость с показателем преломления, равным показателю преломления материала стенки капилляра [15,33]. Температура жидкости стабилизируется с точностью до $2.5 \cdot 10^{-4} \text{ } ^\circ\text{C}$. В таком детекторе снижаются тепловые флуктуации и упрощается интерференционная картина, которая образуется в результате интерференции лучей, прошедших через внутренний канал с исследуемой жидкостью, и лучей, отраженных от поверхности внутреннего канала. Детектор состоит из He-Ne лазера с фокусирующей оптической системой, капилляра, установленного в кювету с термостабилизируемой жидкостью, показателем преломления которой равен показателю преломления материала капилляра, и позиционно чувствительного фотоприемника. Предел детектирования сахарозы составил 10^{-5} моль/литр при отношении сигнал/шум, равном двум, в капилляре с внутренним диаметром 50 мкм [15]. Показано, что воорастание рассеиваемой капилляром тепловой мощности ведет к увеличению флуктуаций показателя преломления. Одним из путей снижения теплового шума является дальнейшее уменьшение проходящего через капилляр

тока за счет уменьшения внутреннего диаметра капилляра до величин порядка 10 мкм.

В работе [34] описан рефрактометрический детектор с капилляром, внутренний диаметр которого составлял 10 мкм. Капилляр устанавливался в термостабилизированную кювету. Детектор содержит полупроводниковый лазер TOLD 9201, генерирующий на длине волны 675 нм, фокусирующую линзу ($f=5$ мм), голографический оптический элемент, цилиндрическую линзу, фокусирующую лучи на фотодиодную линейку. Голографический элемент установлен под углом 30° к оси распространения луча и действует, как пара двух близко расположенных фокусирующих линз, пространственно разнесенных на расстояние, которое несколько больше суммы внутреннего радиуса капилляра и диаметра перетяжки лазерного луча. В области положения капилляра образуются два луча с диаметрами по уровню 0.1 порядка 14 мкм и расстоянием между максимумами 14 мкм. При этом капилляр закрепляется между двумя параллельными стеклянными пластинами, пространство между которыми заполнено жидкостью, показатель преломления которой равен показателю преломления материала капилляра. Один луч проходит через центр капилляра, а другой - мимо внутреннего канала. Затем оба луча фокусируются цилиндрической линзой на фотодиодную линейку, с помощью которой регистрируется изменение показателя преломления жидкости в капилляре по смещению образованных интерференционных полос. Чувствительность детектирования по показателю преломления составляла $2 \cdot 10^{-6}$.

Другим типом рефрактометрического детектора является детектор на основе регистрации отклонения лазерного луча при прохождении его через среду с градиентом показателя преломления. Градиент показателя преломления вызывается изменением концентрации вещества в жидкости. Отклонение луча, падающего на капилляр перпендикулярно его оси X , пропорционально концентрации вещества и выражается формулой [35]:

$$F = \frac{L}{n} \left(\frac{dn}{dx} \right), \quad (5)$$

где F - угол отклонения луча (рад.), L - длина пути луча через среду с поперечным градиентом показателя преломления, n - средний показатель преломления жидкости.

Такой рефрактометрический детектор содержит источник лазерного излучения, фокусирующий объектив, капилляр и позиционно-чувствительный фотоприемник с устройством обработки сигнала. В качестве позиционно-чувствительного фотоприемника могут использо-

ваться как фотоприемник с круглой площадкой, так и с квадратной [36,37]. Чувствительность детектора ограничивается нестабильностью оси направленности излучения лазера и флуктуациями его интенсивности. Лучшие детекторы такого типа, использующие дифференциальную схему для уменьшения влияния вышеперечисленных факторов, имеют чувствительность детектирования на уровне 10^{-6} [38].

Абсорбционные детекторы на основе термооптических эффектов

В капиллярном электрофорезе применяются также абсорбционные детекторы на основе использования термооптического эффекта. В таких детекторах поглощение излучения накачки детектируемым веществом вызывает нагревание буферного раствора в зоне детектирования. Нагрев приводит к изменению показателя преломления электролита, которое регистрируется с помощью зондирующего луча [39].

В детекторе [40] пробный луч полупроводникового лазера перпендикулярен оси капилляра и оси луча аргонового лазера с длиной волны 257 нм. Излучение аргонового лазера модулируется с частотой 314 Гц. Периодически возникающие изменения показателя преломления буферного раствора при прохождении через зону детектирования вещества, поглощающего на длине волны аргонового лазера, регистрируются синхронным детектором на частоте модуляции излучения накачки с помощью рефрактометрического детектора, оптическая схема которого подобна описанной в работе [34]. В капилляре с внутренним диаметром 20 мкм при чувствительности детектирования по показателю преломления 10^{-7} предел детектирования абсорбционного детектора составил $6.7 \cdot 10^{-6}$ е.о.п. при мощности накачки 10 мВт и $2.2 \cdot 10^{-6}$ е.о.п. при мощности накачки 20 мВт.

Абсорбционный детектор на основе регистрации вибраций капилляра, возникающих при поглощении детектируемым веществом в зоне детектирования оптического излучения накачки, состоит из He-Ne лазера, излучение которого фокусировалось на капилляр, и позиционно-чувствительного фотоприемника [41].

Заключение

Рассмотренные выше оптические детекторы, используемые в приборах ВКЭ, позволяют широко использовать ВКЭ для анализа практически всех классов веществ. Наибольшей чувствительностью обладают флуорометрические детекторы. Однако область их применения ограни-

чена наличием флуоресценции исследуемых веществ или возможностью присоединения к ним флуоресцирующей метки. Использование непосредственно флуориметрического детектирования расширяет анализируемые классы соединений, но при этом чувствительность регистрации падает.

Наиболее широко сейчас распространены абсорбционные УФ-детекторы. Они позволяют проводить анализ многих классов веществ с достаточно высокой чувствительностью, хотя и в этом случае часто приходится использовать химически присоединяемые селективно-поглощающие метки. Кроме того, УФ-детекторы требуют тщательной очистки электролитов от поглощающих в УФ области спектра примесей, что заметно повышает стоимость анализов. Важно отметить перспективность абсорбционных детекторов на основе термооптических эффектов.

Рефрактометрические детекторы могут использоваться при анализе практически всех классов веществ, но по чувствительности они несколько уступают УФ-детекторам, применяемых в серийно выпускаемых приборах ВКЭ. Этот недостаток в какой-то степени может компенсироваться существенным снижением стоимости эксплуатации этих детекторов, что связано с использованием долговечных и более дешевых полупроводниковых источников света в видимой и ближней инфракрасной областях спектра по сравнению с недолговечной и дорогой УФ лампой. Усовершенствование конструкции рефрактометрических детекторов позволит им в будущем получить широкое распространение в приборах ВКЭ.

Литература

1. Ewing A.G., Walingford R.A., Olefirowich T.M. Capillary electrophoresis. // Anal. Chem. - 1989, V.61. -P.292A-303A.
2. Kok W.M. Off-column detection with pressure compensation in capillary electrophoresis. // Anal. Chem. - 1993. -V.65. -P.1853-1860.
3. Heiger D.N. High Performance Capillary Electrophoresis -An Introduction. Hewlett-Packard Company, 1992. -136 P.
4. Capillary electrophoresis. Theory and practice. -New York: Academic press, 1992. -352 P.
5. Белецкий В.Г., Ганкина Э.С., Мальцев В.Г. Капиллярная жидкостная хроматография. -Л.: Наука, 1987. -215 С.
6. Navasi P., Kniansky D. Simple UV absorption detector for capillary electrophoresis. // J. of Chromatography. -1985. -V.325. -P.137 - 149.

7. Weinberger S.R. Optical considerations for "on-the-fly" UV-visible high performance capillary electrophoresis. // Linear Instruments Corp., 2325, Robb Dr., Reno NV, 89523.

8. Walbroeld Y., Jorgenson J.W. On-column UV absorption detector for open tubular capillary zone electrophoresis. // J. of Chromatography. - 1984. - V.315. -P.135-143.

9. Optimization and evaluations of the performance arrangements for UV detection in high-resolution separations using fused-silica capillaries. G.J.M.Bruin, G.Stegeman, A.C. van Asten A.C. et al. // J. of Chromatography. - 1991. -V.559. -P.163-181.

10. Moring S.E., Reel R.T. Optical improvements of a Z-shaped cell for high-sensitivity UV absorbance detection in capillary electrophoresis. // Anal. Chem. - 1993. -V.65. -P.3454- 3459.

11. Gordon G. Improvements of absorbance detector for capillary electrophoresis. // Hewlett Packard Labs. -1989. -P.1-8.

12. Xue Y., Yeung E.S. Characterization of band broadening in capillary electrophoresis due to nonuniform capillary geometries.// Anal.Chem. -1994, -V. 66. -P.3575-3580.

13. Chervet J.P., R.J. Van Soest, Ursem M. Z-cell flow cell for UV detection in capillary electrophoresis. // J. of Chromatography. -1991. - V.543. -P. 439-449.

14. Nanoliter scale multireflection cell for absorption detection in capillary electrophoresis. T.Wang, J.H. Aiken, G.W. Huie et al. // Anal. Chem. -1991. -V.6. -P.1372-1376.

15. Use of Peltier thermoelectric devices to control column temperature in high-performance capillary electrophoresis. R.J.Nelson, A.Paulus, A.S.Cohen et al. // J. of Chromatography. -1989. -V.480. - P.111-127.

16. Зайдель А.Н. Атомно-флуоресцентный анализ. -М:Наука,1980. - 240 С.

17. Kuhr W.G., Yeung E.S. Optimization of sensitivity and separation in capillary zone electrophoresis with indirect fluorescence detection. // Anal. Chem. - 1988. -V. 60. -P. 2642-2646.

18. Tsuda T., Sweedler J.V., Zare R.N. Rectangular capillaries for capillary zone electrophoresis. // Anal. Chem. -1990. -V. 62. -P. 2149-2152.

19. On-column laser-based refractive index detector for capillary electrophoresis. A.E. Bruno, B. Krattiger, F.Maystre et al. // Anal. Chem. -1991. -V.63. -P.2689-2697.

20. Detection of single molecules of phycoerythrin in hydrodynamically

focused flows by laser-induced fluorescence. D.H.Nguyen, P.A. Keller, J.H. Jett et al. // Anal. Chem. -1987. -V.59. -P. 2158-2161.

21. Foret F., Fanali S., Ossicini L. Indirect photometric detection in capillary zone electrophoresis.// J. of Chromatography. -1989. -V. 470. -P.299-308.

22. Gross L., Yeung E.S. Indirect fluorometric detection of cations in capillary zone electrophoresis. // Anal. Chem. -1990. -V.62. -P.427-431.

23. Olefirowicz T.M., Ewing A.G. Optical detectors in capillary electrophoresis. p.45-85 in book "Capillary Electrophoresis. Theory & Practice". -New York: Academic Press,1992.

24. Bornhop D.J., Dovichi N.J. Simple nanoliter refractive index detector.// Anal. Chem. -1986. -V.58. -P.504-505.

25. Synovec R.E. Refractive index effects in cylindrical detector cell designs for microbore high-performance liquid chromatography. // Anal.Chem. -1991. -V.45. -P.462-467.

26. Bornhop D.J., Nolan T.J., Dovichi N.J. Subnanoliter laser-based refractive index detector for 0.25-mm i.d. microbore liquid chromatography. Reversed-phase separation of nanogram amounts of sugars. // J. of Chromatography. -1987. -V. 384. -P. 181-187.

27. Watkins L.S. Scattering from side-illuminated glass fibers for determination of fiber parameters. // J. Opt. Soc. Amer. - 1974. -V.64. -P. 767-771.

28. Kasyutich V.L., Mahnach I.I. Intelligent refractive index detector for capillary electrophoresis. // Refractometry. Proc. SPIE. -1995. -V. 2208: -P.94-102.

29. Касютич В.Л., Лобанов А.Ф., Нецаев С.В. Лазерный рефрактометрический детектор для высокоэффективной микрохроматографической жидкостной хроматографии и капиллярного электрофореза. // Лазерная и оптико-электронная техника. Межвуз. сб. науч. трудов. Вып.2-Мн.: Белгосуниверситет, 1992. -С.197-201.

30. Kasyutich V.L. Automatic laser diode refractive index detector for capillary electrophoresis.// Seventh International Symposium on high performance capillary electrophoresis: Book of abstracts - Wurzburg, 1995. -P.169-170.

31. Liu K.K., Davis K.L., Morris M.D. Raman spectroscopic measurement of spatial and temporal temperature gradients in operating electrophoresis capillaries.// Anal.Chem. -1994. -V.66. -P.3744 - 3750.

32. Касютич В.Л. Влияние флуктуаций на чувствительность лазерного рефрактометрического детектора. // Республиканская конференция

рения молодых ученых по квантовой электронике: Тео. докл. -Мн.: БГУ, 1994. -С.38-39.

33. Kouznetsov D.A., Ivanov A.A., Veletsky P.R. Detection of alkylated cellulose derivatives in several archaeological linen textile samples by capillary electrophoresis. Mass spectrometry. // Anal.Chem. -V. 66. -P.4359-4365.

34. Krattiger B., Bruin G.J.M., Bruno A.E. Hologram - based refractive index detector for capillary electrophoresis. Separation of metal ions. // Anal. Chem. -1994. -V.66. -P.1-8.

35. Pawliszyn J. Concentration gradient detector in capillary separation technology. // J. of Liq. Chromatography. -1987, -V.10,N 15. -P.3377-3392.

36. Pawliszyn J. Laser beam deflection sensor as a detector for high-efficiency chromatography. // Anal.Chem. - 1986. -V.58. -P.243-246.

37. Photothermal deflection spectroscopy and detection. W.B. Jadison, N.M.Amer, A.C.Boccara et al. // Appl. Optics. -1981. -V.20, N 8. -P.1333-1344.

38. Pawliszyn J. Nanoliter volume sequential differential concentration gradient detector. // Anal. Chem. -1988. -V. 60. -P. 2796-2801.

39. Bruno A.E., Paulus A., Bornhop D. J. Thermo - optical absorption detection in 25-microns-i.d. capillaries: Capillary electrophoresis of dansyl-amino acids mixtures. // Appl. spectroscopy. -1991. -V.45, N 3. -P.462-467.

40. Hologram-based thermo-optical absorbance detection in capillary electrophoresis. Separation of nucleosides and nucleotides. B.Krattiger, A.E. Bruno, H.M. Widmer et al. // Anal. Chem. -1995. -V. 67. -P. 124-130.

41. Otake T., Kitamory T., Sawada T. Photothermal effects in a capillary and optimum conditions for absorbance detection of capillary electrophoresis. // Anal. Chem. -1995. -V.67. -P.145-148.