

УДК 543.420.62:535.8

## ОПТИМИЗАЦИЯ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ ТЕРМОЛИНЗОВОГО ДЕТЕКТИРОВАНИЯ В КАПИЛЛЯРНОМ ЭЛЕКТРОФОРЕЗЕ

С.Н. Бендрышева, Н.Ю. Рагозина, Д.А. Недосекин, М.А. Проскурнин, У. Пюэль\*

*(кафедра аналитической химии)*

Рассмотрены основные инструментальные параметры скрещенно-лучевого термолинзового детектора для капиллярного электрофореза. На основе экспериментальных данных и теоретических расчетов подобраны оптимальные значения основных параметров детектора: размера диафрагмы фотодетектора, расстояния между капилляром и перетяжками лучей индуцирующего и зондирующего лазеров, частоты прерывателя. В оптимизированных условиях проведено разделение модельной смеси нитрофенолов. Пределы обнаружения составляют  $10^{-7}$ – $10^{-6}$  М, что на полтора порядка ниже, чем в случае спектрофотометрического детектирования в УФ-диапазоне в тех же условиях.

Термолинзовая спектрометрия (ТЛС) является одним из наиболее чувствительных оптических методов молекулярной спектроскопии поглощения, который в сочетании с различными методами разделения и концентрирования все более широко используется в качестве высокочувствительного фотометрического детектора [1–6]. Особенно интересен этот метод для детектирования в капиллярном электрофорезе, так как в этом случае детектируемый объем составляет несколько микролитров. Наибольшей чувствительностью в этом случае обладает скрещенно-лучевая термолинзовая спектрометрия (фототермическая рефрактометрия). Чувствительность и воспроизводимость термолинзовых измерений существенно зависят от параметров оптической схемы детектора [1, 7]. Таким образом, представляется важным подобрать оптимальные значения ключевых инструментальных параметров скрещенно-лучевого термолинзового детектора, оценив их значения из теории термолинзовой спектрометрии с последующей экспериментальной проверкой при помощи электрофоретического разделения и термооптического определения компонентов модельной смеси.

### Экспериментальная часть

#### *Оптическая схема термолинзового детектора.*

Реализована трехмерная скрещенно-лучевая оптическая схема спектрометра, при которой индуцирующий луч, капилляр и зондирующий луч расположены под

прямыми углами относительно друг друга. Ход лучей и основные элементы оптической схемы детектора представлены на рис. 1. Параметры оптической схемы термолинзового детектора приведены в табл. 1. Индуцирующий лазерный луч (He–Cd, IK3552R-G “KIMMON electronic co., ltd.” Токио, Япония) модулируется прерывателем, отражается зеркалом под прямым углом и с помощью линзы I фокусируется в капилляре. Зондирующий луч (лазерный диод “Toshiba TOLD 1050”, “Schaeffer&Kirchhoff”, Германия) фокусируется системой ахроматических линз II, проходит через капилляр, где, как правило, рассеивается термолинзовым элементом и через диафрагму попадает на фотодетектор. Сигнал (интенсивность в центре зондирующего луча) с фотодетектора подается на плату АЦП–ЦАП компьютера типа IBM PC/AT. Синхронизация процесса измерений осуществляется компьютером при помощи специальной программы.

**Капиллярный электрофорез.** Модельные смеси разделяли с помощью электрофоретической системы “SpectraPhORESIS 100” (“ThermoQuest”), легко совместимой с описанным выше термолинзовым и традиционным (“TSP SPECTRA 100”) УФ-детекторами.

Разделение проводили в капиллярах с внутренним и внешним диаметрами 75 и 360 мкм соответственно (“Polymicrotechnologies”, Великобритания). В качестве разделительного буфера использовали раствор 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + 12,5 мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7).

\*Марбургский университет, химический факультет, кафедра аналитической химии, Марбург, Германия.

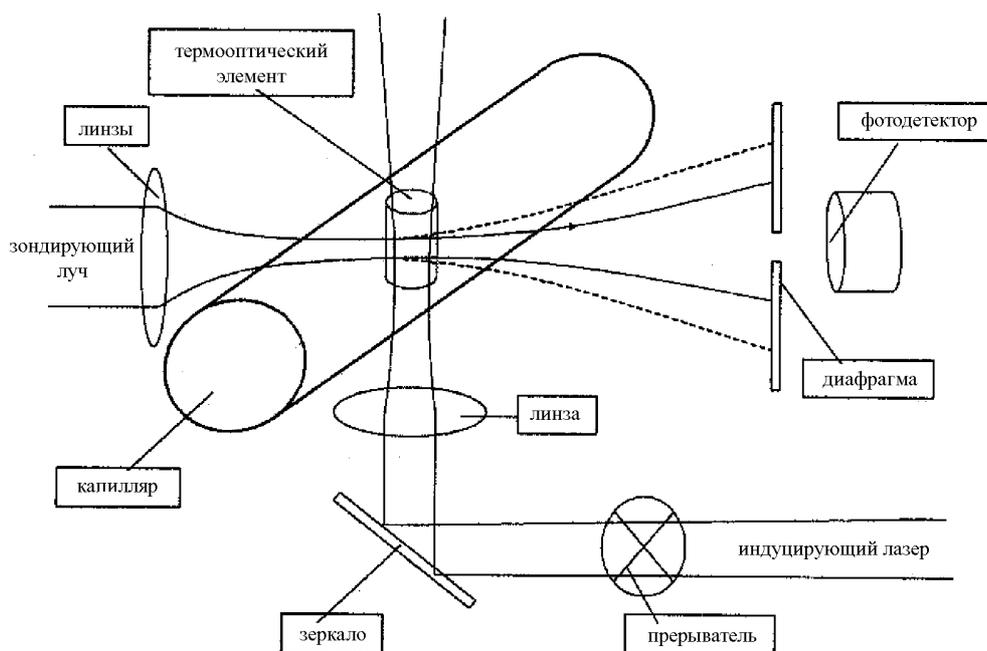


Рис. 1. Ход лучей и основные элементы оптической схемы скрещенно-лучевого термолинзового детектора

**Вспомогательные измерения.** Все предварительные измерения на этапе спектрофотометрических исследований проводили на спектрофотометре "Philips PU 8720 UV/VIS". Для контроля значения pH разделительного буферного раствора использовали pH-метр "inoLab pH Level 1" (Германия).

**Реагенты и растворители.** В работе использовали следующие реагенты: ализариновый желтый ("Aldrich", Германия, содержание красителя ~50%), 2-, 3-, 4-нитрофенолы ("Fluka", Германия),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  ("Fluka", Германия) и  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  ("Fluka", Германия). Для приготовления рабочих растворов использовали тридистиллированную деионизованную воду (установка очистки воды "Milli-Q" ("Millipore", Франция), удельное сопротивление не ниже 18,2 МОм×см).

**Обработка результатов измерений.** Единичное термолинзовое измерение образца представляет аппаратный сигнал образца  $\vartheta$ , вычисленный из уравнения:

$$\vartheta = \Delta I_p / I_p, \quad (1)$$

где  $I_p$  – интенсивность излучения зондирующего лазера и  $\Delta I_p$  – его изменение на термолинзе. В качестве аналитического термолинзового сигнала использовали величину

$$\theta = 2,303 E_0 P_e A, \quad (2)$$

где  $P_e$  – мощность излучения, индуцирующего термолинзу (Вт);  $A$  – оптическая плотность образца

(среды);  $E_0$  – фактор увеличения чувствительности термолинзовой спектрометрии по сравнению с традиционной спектрофотометрией для единичной мощности индуцирующего излучения,

$$E_0 = \frac{(-dn/dT)}{\lambda_p k}. \quad (3)$$

Здесь  $\lambda_e$  – длина волны зондирующего лазера,  $dn/dT$  – температурный градиент показателя преломления и  $k$  – коэффициент теплопроводности. Взаимосвязь аналитического ( $\theta$ ) и аппаратного ( $\vartheta$ ) сигналов определяется уравнением

$$\vartheta = (1 - B\theta)^2 - 1, \quad (4)$$

где  $B$  – геометрическая константа спектрометра:

$$B = \frac{1}{2} \arctg \left( \frac{2mV}{1 + 2m + V^2} \right), \quad (5)$$

учитывающая расстояние между перетяжкой зондирующего луча и капилляром  $V$  (в единицах конфокальных расстояний зондирующего лазера) и соотношение площадей поперечного сечения зондирующего и индуцирующего лучей в образце  $m$ .

Зависимость сигнала на фотодетекторе от радиуса диафрагмы  $R$  (измеряется в долях радиуса луча зондирующего лазера в плоскости детектора) рассчитывали по уравнению [8, 9]:

$$\tilde{\vartheta}(R) = \frac{1}{\vartheta_{\max}} \left( \frac{\operatorname{erf}(\sqrt{2R})^2}{\operatorname{erf}(\sqrt{2R}/\sqrt{\vartheta_{\max}+1})^2} - 1 \right), \quad (6)$$

где  $\vartheta_{\max}$  – гипотетический максимальный аппаратный термолинзовый сигнал при измерениях в центре луча при помощи детектора бесконечно малого размера.

Пространственный профиль роста температуры в капилляре относительно окружающей среды за счет многократного облучения среды индуцирующим лучом после установления теплового равновесия рассчитывали по уравнению

$$\Delta T(r) = \frac{P_e \alpha}{2\pi k} \int_0^{2\varphi t_c} \frac{\exp\left(\frac{-2r^2}{1+2x}\right)}{1+2x} dx, \quad (7)$$

где  $r$  – расстояние от центра индуцирующего луча в долях радиуса луча индуцирующего лазера,  $\alpha$  – линейный коэффициент поглощения образца ( $\text{см}^{-1}$ ),  $\varphi$  – частота прерывателя;  $t_c$  – характеристическое время термолинзы, рассчитываемое по формуле

$$t_c = \frac{\omega_{0e}^2}{4D}, \quad (8)$$

где  $D$  – температуропроводность,  $\omega_{0e}$  – радиус перетяжки луча индуцирующего лазера.

Изменение температуры в центре луча относительно окружающей среды за счет многократного облучения среды индуцирующим лучом после установления теплового равновесия  $\Delta T_c$  рассчитывали из уравнения (7) при условии  $r = 0$ .

Пространственный профиль изменения показателя преломления (область развития термолинзы) после установления теплового равновесия рассчитывали по уравнению

$$\Delta n(r) = -k\lambda_p E_0 \Delta T(r), \quad (9)$$

$\Delta T(r)$  рассчитывали из уравнения (7).

Изменение температуры в центре луча, наблюдающееся за один цикл «формирование термолинзы – диссипация термолинзы», оценивали по формуле:

$$\Delta T_{\infty} = \frac{P_e \alpha}{4\pi k} \sqrt{\sinh^2\left(\frac{\varphi t_c}{2}\right) + \cosh^2\left(\frac{\varphi t_c}{2}\right)}, \quad (10)$$

где  $\sinh(x)$ ,  $\cosh(x)$  – функции гиперболических синуса и косинуса соответственно.

### Результаты и их обсуждение

Основные геометрические параметры, характеризующие зондирующий луч при скрещенно-лучевых термолинзовых измерениях в капилляре, представлены на рис. 2. Как уже сообщалось [1, 2], для случая термолинзового детектирования в капиллярах наиболее оптимальным является детектирование в ближней зоне, т.е. при  $Z_2 \gg Z_1$  (условие дифракции Френеля). При этом минимизируются краевые эффекты, вызван-

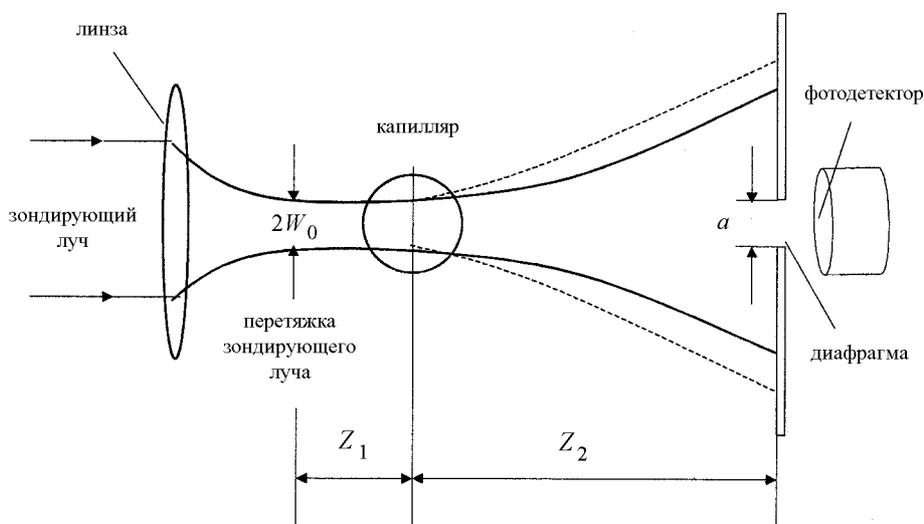


Рис. 2. Основные геометрические параметры зондирующего луча при скрещенно-лучевом термолинзовом детектировании в капилляре

ные интерференцией луча зондирующего лазера, что увеличивает воспроизводимость термолинзовых измерений.

**Размер диафрагмы детектора.** Теоретические расчеты показывают, что интенсивность термолинзового сигнала уменьшается с увеличением радиуса диафрагмы, расположенной перед фотодетектором (рис. 2). Вместе с тем уменьшение радиуса диафрагмы неизбежно приводит к ослаблению интенсивности зондирующего луча. Таким образом, для эффективной работы термолинзового детектора необходимо подобрать оптимальные условия, учитывающие влияния этих двух взаимоположенных факторов (6). Подбран оптимальный диаметр диафрагмы для оптической схемы (а), реализованной в термолинзовом детекторе, он составляет 0,2 мм, что согласуется с теоретически рассчитанным из уравнения (6) значением ( $a = 0,4R$ ).

**Расстояние между капилляром и перетяжкой индуцирующего луча.** Расстояние между перетяжкой луча индуцирующего лазера и капилляром непосредственно влияет на размер луча в капилляре и эффективную мощность лазерного излучения, создающего термолинзу. Так как термолинзовый сигнал прямо пропорционален мощности индуцирующего лазера, то положение перетяжки в центре капилляра соответствует конфигурации с наибольшей чувствительностью измерений. Экспериментально подтверждено, что максимальная чувствительность измерений соответствует положению перетяжки в центре капилляра.

Важно отметить, что по теоретическим расчетам при выбранном расположении перетяжки изменение размера индуцирующего луча внутри капилляра не существенно (не более 5%). Согласно [1], при расчетах изменения температуры и показателя преломления можно пренебречь распределением температуры вдоль оси распространения луча, т.е. применима двумерная модель теплопроводности и можно использовать уравнения (7)–(10).

**Расстояние между капилляром и перетяжкой зондирующего луча.** Экспериментальная зависимость термолинзового сигнала от расстояния между капилляром и перетяжкой зондирующего луча  $Z_1$  представлена на рис. 3. Наличие двух максимумов термолинзового сигнала и их положение соответствуют теоретическим расчетам по уравнениям (1)–(5). Положительные значения  $Z_1$  соответствуют случаю, когда перетяжка зондирующего луча находится перед капилля-

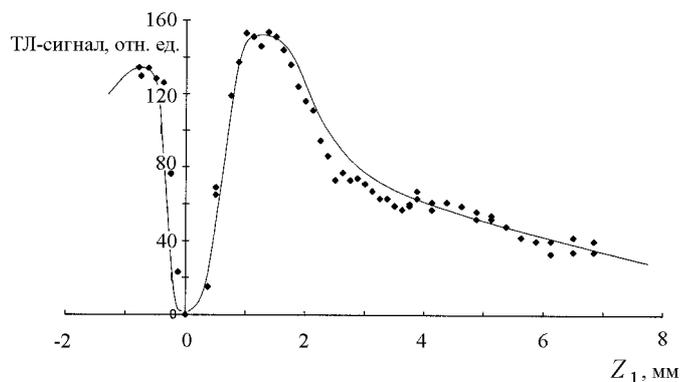


Рис. 3. Зависимость термолинзового сигнала от расстояния между капилляром и перетяжкой луча зондирующего лазера. Кривая соответствует теоретическим расчетам по уравнениям (1)–(5), точки – экспериментальные результаты. Раствор ализаринового желтого  $8 \times 10^{-5}$  М в буфере 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12,5$  мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7), общая длина капилляра 71,6 см, эффективная длина капилляра 41,3 см,  $\lambda = 325$  нм, мощность излучения индуцирующего лазера 50 мВт, частота прерывателя 40 Гц

ром (между фокусирующей линзой и капилляром),  $Z_1$  принимает отрицательные значения при расположении перетяжки за капилляром (между капилляром и фотодетектором). Нулевое значение термолинзового сигнала ( $Z_1 = 0$ ) имеет место в том случае, когда перетяжка зондирующего луча оказывается в центре капилляра. Следует отметить, что при смене капилляра положение максимумов может смещаться ( $\Delta Z_1 \pm 0,25$  мм), что в первую очередь связано с неповторимостью стенок капилляра как оптического элемента (толщина и показатель преломления), что неизбежно вносит свой вклад в формирование окончательного термолинзового сигнала. Однако вид кривой на рис. 3 показывает, что такие изменения не существенно сказываются на чувствительности, так как в районе максимума термолинзовый сигнал меняется не более чем на 5% в диапазоне  $\Delta Z_1 \approx 1$  мм.

**Частота прерывателя.** Частота прерывателя  $f$  влияет в первую очередь на температурные изменения в образце в продолжение одного цикла (9). С уменьшением частоты прерывателя время формирования термолинзового элемента и время его релаксации увеличиваются, и соответственно возрастает интенсивность термолинзового сигнала. Однако частоты измерений должны быть приемлемы для проточных методов анализа и обеспечивать высокие времена отклика детектора. Исследовано влияние частоты прерывателя в диапазоне 40–95 Гц. На рис. 4 представлена экспериментальная зависимость термолинзового сигнала от частоты прерывателя. Полученная

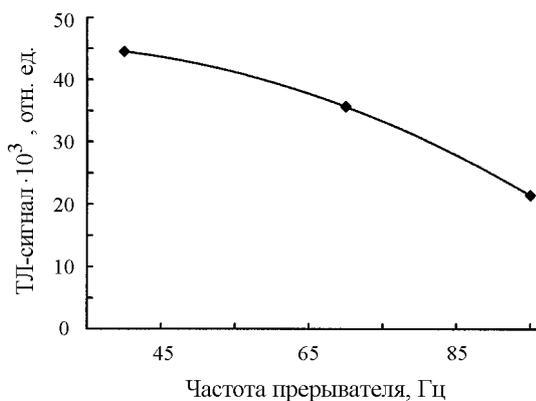


Рис. 4. Зависимость термолинзового сигнала от частоты прерывателя. Кривая соответствует теоретическим расчетам по уравнениям (1)–(5), точки – экспериментальные результаты. Раствор ализаринового желтого  $8 \times 10^{-5}$  М в буфере 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12,5$  мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7), общая длина капилляра 71,6 см, эффективная длина капилляра 41,3 см,  $\lambda = 325$  нм, мощность излучения индуцирующего лазера 50 мВт

экспериментальная зависимость хорошо согласуется с теоретически ожидаемой. Для дальнейших экспериментов выбрана частота 40 Гц, что обеспечивает максимальную чувствительность измерений.

**Рост температуры в капилляре.** За один цикл прерывателя происходит локальный нагрев образца и дальнейшее распределение избыточной энергии за счет теплообмена с окружающей средой через ненагретые участки жидкости и стенки капилляра. После достижения теплового равновесия колебание температуры ( $\Delta T_\infty$ ) за один цикл можно рассчитать по (9). Для чистой воды (325 нм, мощность индуцирующего луча 50 мВт)  $\Delta T_\infty$  составляет  $1,1 \times 10^{-4}$  К, для поглощающих веществ с термолинзовым сигналом, лежащим в середине рабочего диапазона (расчет для ализаринового желтого  $2 \times 10^{-6}$  М, молярный коэффициент поглощения  $\epsilon = 8,5 \times 10^3$  л/(моль·см)) – примерно 0,01 К, а для сильно поглощающих растворов (ализариновый желтый  $8 \times 10^{-5}$  М) – 0,4 К.

В случае капиллярного электрофореза также важно общее увеличение температуры в капилляре относительно окружающей среды за счет термолинзового эффекта ( $\Delta T_r$ ). Значение  $\Delta T_r$  для чистой воды, рассчитанное по (7), составляет  $5,8 \times 10^{-4}$  К, для поглощающих веществ с термолинзовым сигналом, лежащим в середине рабочего диапазона (ализариновый желтый  $2 \times 10^{-6}$  М), – 0,05 К, а для сильно поглощающих растворов (ализариновый желтый  $8 \times 10^{-5}$  М) – 2 К.

**Объем анализируемого раствора, формирующий термолинзу, и размер термооптического элемента.** При облучении капилляра индуцирующим лазером энергетические изменения претерпевают молекулы поглощающего вещества, непосредственно находящиеся в зоне облучения. Таким образом, термолинзовый сигнал характеризует объем пробы, ограниченный индуцирующим лучем и стенками капилляра. Так как расхождение индуцирующего луча в капилляре несущественно, объем можно рассчитать по формуле

$$V_{\text{обл}} = \pi \omega_{0e}^2 d,$$

где  $d$  – внутренний диаметр капилляра,  $\omega_{0e}$  – радиус индуцирующего лазера (3,6 фл).

Как известно, размер развившейся термолинзы обусловлен размером перетяжки луча индуцирующего лазера, частотой прерывателя и теплопроводностью среды. Чем больше время облучения и выше  $k$ , тем больше размер термооптического элемента. Так как радиус индуцирующего луча  $\omega_e$  не меняется в капилляре ( $\omega_e = \omega_{0e}$ ), то нет осевого потока тепла. Следовательно, применима двухмерная модель теплопроводности, на основе которой можно рассчитать зависимость показателя преломления  $\Delta n(r)$  и из полученных значений оценить размер развившейся термолинзы. На основе уравнений, характеризующих  $\Delta T(r)$  и  $\Delta n(r)$  (уравнения (7), (9)) для выбранных условий (40 Гц, водная среда) рассчитанный размер развивающейся термолинзы  $\omega_{mo}$  в несколько раз превышает  $\omega_{0e}$  и составляет  $60 \pm 10$  мкм. В этом случае объем термооптического элемента может быть оценен как

$$V = \pi d^2 \omega_{mo}.$$

В нашем случае объем анализируемого раствора, испытывающего нагрев, равен  $1,0 \pm 0,2$  нл. Следует заметить, что в выбранном рабочем диапазоне частот прерывателя максимальный диаметр термолинзы не превышает 70 мкм, т.е. термооптический элемент полностью локализован в исследуемом растворе и нет потерь чувствительности за счет оттока тепла через стенки капилляра.

**Сравнение возможностей термолинзового детектора и традиционного УФ-детектора на примере модельной смеси нитрофенолов.** В подобранных оптимальных инструментальных условиях (табл. 1) проведено разделение модельной смеси нитрофенолов. Характерные электрофореграммы, полученные с

Основные параметры оптической схемы термолинзового детектора

Индущирующий лазер, He–Cd	Длина волны, $\lambda_e$ (нм)	325
	Радиус луча лазера в перетяжке $\omega_{e0}$ (мкм)	3,88
	Фокусное расстояние фокусирующей линзы $f$ (мм)	25
	Конфокальное расстояние $Z_{ce}$ (мм)	0,146
	Мощность лазерного излучения $P_e$ (мВт)	50
Зондирующий лазер	Длина волны $\lambda_p$ (нм)	681,9
	Радиус луча лазера в перетяжке $\omega_{p0}$ (мкм)	18,5
	Фокусное расстояние фокусирующей линзы $1f$ (мм)	20
	Фокусное расстояние фокусирующей линзы $2f$ (мм)	20
	Конфокальное расстояние $Z_{cp}$ (мм)	1,59
	Мощность лазерного излучения (мВт)	33
Другие параметры	Внутренний диаметр капилляра (мкм)	75
	Внешний диаметр капилляра (мкм)	360
	Расстояние между капилляром и фотодетектором (мм)	25,5
	Диаметр диафрагмы зондирующего луча $a$ (мкм)	200
	Частота прерывателя (Гц)	40–95

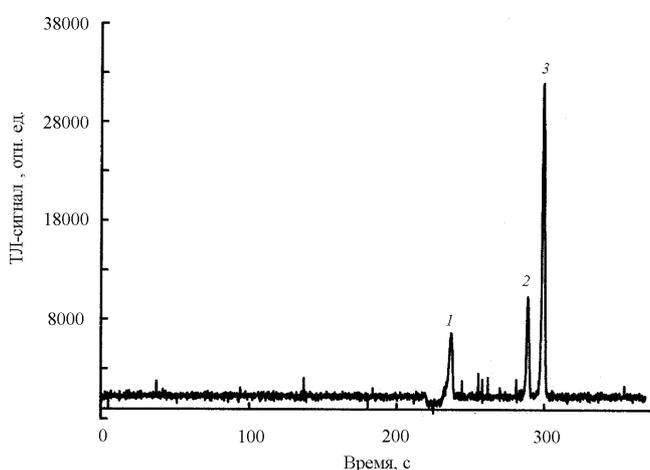


Рис. 5. Разделение 3-нитрофенола (1), 2-нитрофенола (2) и 4-нитрофенола (3) (каждый по  $2 \times 10^{-5}$  М) с термолинзовым детектированием; разделительный буфер 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12,5$  мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7), напряжение 20 кВ, ввод пробы 1 с (200 мбар), общая длина капилляра 71,6 см, эффективная длина капилляра 41,3 см,  $\lambda = 325$  нм, мощность излучения индуцирующего лазера 50 мВт, частота прерывателя 40 Гц

помощью термолинзового и традиционного УФ-детекторов, представлены на рис. 5 и 6, соответственно. На основании полученных данных рассчитаны пределы обнаружения для 2-, 3- и 4-нитрофенолов (табл. 2) при термолинзовом детектировании и УФ-детектировании при идентичной длине волны (325 нм) и в максимуме поглощения нитрофенолов (210 нм). При одинаковых условиях детектирования увеличение чувствительности в случае термолинзовых измерений составило 40 раз или более.

Таким образом, в результате проделанной работы подобраны оптимальные условия термолинзового детектирования в капиллярах, что обеспечивает высокую чувствительность измерений (превышение чувствительности УФ-детектирования в 40 раз). В дальнейшем мы планируем использовать термолинзовый детектор для определения компонентов реальных объектов, поглощающих в ближней УФ-области.

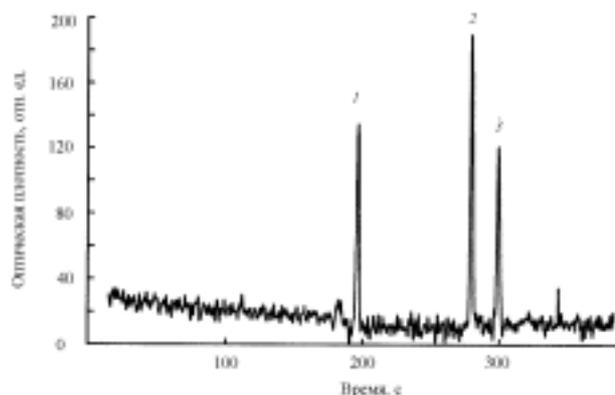


Рис. 6. Разделение 3-нитрофенола (1), 2-нитрофенола (2) и 4-нитрофенола (3) (каждый по  $8 \times 10^{-5}$  М) с УФ-детектированием; разделительный буфер 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12,5$  мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7), напряжение 20 кВ, ввод пробы 1 с (200 мбар), общая длина капилляра 71,6 см, эффективная длина капилляра 41,3 см,  $\lambda = 210$  нм

Т а б л и ц а 2

Пределы обнаружения ( $\times 10^7$  М) компонентов модельной смеси нитрофенолов при термолинзовом (ТЛС) и УФ-детектировании

Соединение	ТЛС, 325 нм	УФ, 210 нм	УФ, 325 нм
2-нитрофенол	10	60	600
3-нитрофенол	15	90	600
4-нитрофенол	3	100	170

*Примечание.* Условия разделения: буферный раствор 12,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12,5$  мМ  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (рН 7), напряжение 20 кВ, ввод пробы 1 с (200 мбар), общая длина капилляра 71,6 см, эффективная длина капилляра 41,3 см, частота прерывателя при термолинзовых измерениях 40 Гц.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Bialkowski S.E.* Photothermal Spectroscopy Methods for Chemical Analysis. N.Y., 1996.
2. *Ragozina N.Y., Heissler S., Faubel W., Pyell U.* // Anal. Chem. 2002. **74**. P. 4480.
3. *Ragozina N.Y., Puetz M., Heissler S., Faubel W., Pyell U.* // Anal. Chem. 2004. **76**. P. 3804.
4. *Qi M., Li X.-F., Stathakis C., Dovichi N.J.* // J. Chromatogr. A. 1999. **853**. P. 131.
5. *Waldron K.C., Li J.* // J. Chromatogr. B. 1996. **683**. N 1. P 47.
6. *Beer T. de, Velthorst N.H., Brinkman U.A.Th., Gooijer C.* // J. Chromatogr. A. 2002. **971**. P. 1.
7. *Proskurnin M.A., Kuznetsova V.V.* // Anal. Chim. Acta. 2000. **418**. P. 101.
8. *Прокурнин М.А., Аброскин А.Г., Радушкевич Д.Ю.* // ЖАХ. 1999. **54**. № 1. С. 101.
9. *Прокурнин М.А., Аброскин А.Г.* // ЖАХ. 1999. **54**. № 5. С. 460.
10. *Proskurnin M.A., Slyadnev M.N., Tokeshi T., Kitamori T.* // Anal. Chim. Acta. 2003. **480**. P. 79.

Поступила в редакцию 23.09.04

## OPTIMIZATION OF INSTRUMENTAL PARAMETERS OF THE THERMAL LENS DETECTOR FOR CAPILLARY ELECTROPHORESIS

S.N. Bendrysheva, N.Yu. Ragozina, D.A. Nedosekin, M.A. Proskurnin, U. Pyell

(Division of Analytical Chemistry)

The main instrumental parameters of the crossed-beam thermal lens detector for capillary electrophoresis are considered. Optimum values of the photodetector aperture size, distance between the capillary and the probe and excitation beam waists, chopper frequency are calculated from the thermal lens theory and confirmed experimentally. Under optimized conditions, the separation of 2-, 3-, 4-nitrophenols is carried out. The limits of detection ( $S/N=3$ ) for nitrophenols are  $nr10^{-6} - nr10^{-7}$  mol  $\text{L}^{-1}$ . For these test substances the limits of detection were improved by a factor of 30 compared to conventional UV-photometric detection under the same conditions.