

## Pulse Bipolarometry for Electrochemical Detection in Flow Systems (Pulsní biamperometrie pro elektrochemickou detekci v průtokových systémech)

Marina Komendová<sup>1</sup>, Radovan Metelka<sup>2</sup>, and Jiř Urban<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Pardubice, Faculty of Chemical Technology, Department of Analytical Chemistry, Studentská 573, 53200 Pardubice, Czech Republic, E-mail: radovan.metelka@upce.cz

<sup>2</sup>Masaryk University, Faculty of Science, Department of Chemistry, Komenského 75/3, 60200 Brno, Czech Republic

### Abstract

A novel, pulse bipolarometric technique was developed for enhancing the intensity of currents measured during electrochemical detection in flow systems. Two polarizable electrodes in form of microfibers made of carbon, platinum or their combination were utilized for bipolarometric detection of dopamine in capillary detectors. Using a sequence of positive and negative potentials, measured signals were two orders of magnitude higher than those obtained for direct bipolarometry. Such amplification resulted in forty times increase in sensitivity for dopamine detection. In a pulse mode, the passivation of electrodes was significantly reduced and the repeatability of individual injections was markedly improved.

**Key words:** Pulse bipolarometry, Microelectrodes, Capillary detector, Dopamine.

### Úvod

Biamperometrie s využitím dvou polarizovatelných elektrod může být použita jako detekční technika (pokud i) redukovaná i oxidovaná forma analytického látky jsou v roztoku přítomny současně<sup>1,2</sup> nebo ii) existují dva ireverzibilní a navzájem redukční systémy s opačnými elektrochemickými procesy<sup>3,4</sup>. Na elektrody se aplikuje malý nebo dokonce nulový potenciálový rozdíl pro měření proudu s požadovanou selektivitou a malým přídělným proudem pozadí. Požadavky na selektivitu mohou být měnit důležitě v případech, kdy je analyt generován v průběhu průtokového stanovení nebo elektrochemickou detekcí předchází separační krok, např. s využitím kapilární HPLC. Biamperometrie byla použita jako detekční technika v průtokové analýze řady anorganických a organických látek<sup>5-11</sup>. Velmi jednoduché instrumentální uspořádání, snadná miniaturizace elektrod pro mikrofluidní zařízení<sup>12</sup> a osazení proudu tokovými cyklováním na mikroelektrodách a profilovaných elektrochemických polích<sup>13,14</sup> jsou v současnosti hlavní výhody použití biamperometrie.

Bylo rovněž publikováno několik prací o biamperometriích stanovení katecholaminových neurotransmiterů, ale jen jako doplňkové metody<sup>15,16</sup>. Katecholaminy mohou být detekovány také přímo biamperometrií v důsledku jejich rychlé oxidace na odpovídající chinon a zpětné redukce na výchozí látku. V roztocích fosforátanového pufru o fyziologickém pH mohou vznikat další elektroaktivní oxidací produkty chinonů<sup>17</sup>, které přispívají k celkovému měřnému proudu. Tvorba těchto skloněných vláček může vést k pasivaci elektrochemického povrchu způsobenou jejich silnou adsorpcí a následnou polymerací. V tomto příspěvku byly testovány možnosti pulzního režimu biamperometrie pro zlepšení citlivosti a opakovatelnosti detekce dopaminu v průtokovém uspořádání s kapilárními mikroelektrochemickými detektory z různých materiálů.

## Experimentální část

### Chemikálie a přístroje

0,1 M fosforečnanový pufr (pH 6,6) byl připraven smícháním odpovídajících množství  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  (Ludbema a.s.) a  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Sigma-Aldrich) v ultračisté vodě (Milli-Q, Millipore S.A.S). K přípravě vodně-organického nosného roztoku byl smíchán 0,1 M fosforečnanový pufr s acetonitrilem (Sigma-Aldrich) v poměru 1:1 (v/v). Základní roztok dopaminu hydrochloridu (Sigma-Aldrich) ve fosforečnanovém pufru a ve vodě s acetonitrilem s koncentrací  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  byl připravován denně čerstvě. Nižší koncentrace dopaminu byly připraveny stejným způsobem rozředěním dopaminu použitým nosným roztokem.

Kozmky byly řepány syringy pumpou (KD Scientific) z plastové utlikačky o objemu 5 ml do hermetického dialektického vstupu s normovou šířkou 5  $\mu\text{l}$  (DCOM s.r.o.) a dále do kapiláry o vnitřním průměru 120  $\mu\text{m}$  (Polymeric Technologies) s integrovaným elektrochemickým detektorem. Průvadové účelky v čase byly sledovány ve dvouoktárodním upraveném potenciostatu PalmSens a softwaru PSTrace (PalmSens BV). Pro přímou biamprometrii bylo použito detekční napětí +1,4 V, V případě pulzní biamprometrie byla nastavena eploxijsí se sekvencí napětí +1,4 V po dobu 0,2 s (měření proudu), -1,4 V po dobu 0,4 s a 0 V po dobu 0,1 s. Kapilára s detektorem byla umístěna ve Faradayově kleci (Metrohm Autolab). Dopamin byl dýchávkou 200 a po začátku měření a ustálení cirkulačního

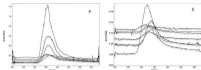
### Připrava doplněných elektrod

Na keramickou desku (Cross Chemicals) byla pomocí kyanokrylátového lepidla připravena deska mikrovlákna z platiny (průměr 15  $\mu\text{m}$ ) nebo uhlíku (průměr 7  $\mu\text{m}$ , viz Goodfellow). Mikroelektrody byly před připojením na podklad konstrukčně k používání dle údajů výrobce uhlíkových vláken (Ted Pella, Inc.). Křmenová kapilára o vnitřním průměru 120  $\mu\text{m}$  byla upravena do mikromanipulátoru (Narishige) a následně byly dle mikroelektrody namazány pod mikroskopem do kapiláry a uchyceny lepidlem. Takto připravený detektor se nechal před použitím 24 hodin vytvrdnout.

## Výsledky a diskuse

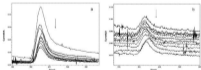
Přímou pulzní biamprometrii lze detekovat dopamin v průtokové injekční analýze s využitím kapilárních detekcí a platiny nebo uhlíkových mikroelektrod. Měření proudu jsou však velmi malá, jejich hodnota se pohybuje kolem 1 nA pro největší koncentraci dopaminu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$  a měřeno rozsahu na platinyových mikroelektrodách a s použitím uhlíkových vodně-organického nosného roztoku (Obr. 1a). V tomto případě byly průvadové účelky dopaminu lineární v rozsahu koncentrací  $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  s rovnici regrese kalibrační závislosti  $I_p \text{ [nA]} = 2239 c \text{ [mol l}^{-1}] - 0,1$  a koeficientem determinace  $R^2 = 0,9906$ . Na dvou uhlíkových elektrodách, kombinaci uhlíkové a platiny mikroelektrody a v časem fosforečnanovém pufru byly účelky dopaminu a výsledná závislost měření vždy nelineární. Opakovanějším jednotlivých měření dopaminu nebyla při klasické biamprometrii zjištěna, je patrné výrazné snížení proudu jako společném měření v důsledku průvodec povrchu elektrod (Obr. 2a).

Pochopitelně zlepšení bylo dosaženo aplikací pulzního režimu detekce, kdy se mikroelektrody střídavě polarizovaly kladným a záporným napětím s nulovým při 0 V. Proud byl zachycován v čase sekvence při +1,4 V, jak je patrné na Obr. 1b, naměřené hodnoty proudu byly o dva řády vyšší než v případě přímé biamprometrie, což se projevilo skokovou čtyřicetinásobným zvýšením citlivosti měření. Kalibrační závislost byla popsána regresní rovnicí  $I_p \text{ [nA]} = 7726 c \text{ [mol l}^{-1}] + 0,7$  a koeficientem determinace  $R^2 = 0,9965$ . Dleko rovněž ke zvýšení lineárního rozsahu, ale pouze do koncentrace  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$ .



**Obč. 1.** Příložková injekční analýza dopaminu a biamprometrickou a pulzní biamprometrickou detekcí: a) biamprometrie,  $5 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  dopaminu, čistá Pt mikroelektroda, detekční napětí  $+1,4 \text{ V}$ , b) pulzní biamprometrie,  $1 \cdot 10^{-7} - 5 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$  dopaminu, Pt a C mikroelektroda, sekvenční napětí  $-0,4 \text{ V}$  (0,2 s),  $-0,4 \text{ V}$  (0,4 s),  $0 \text{ V}$  (0,1 s). Kapilární detektor o vnitřním průměru  $50 \mu\text{m}$ , nosný roztok  $0,1 \text{ M}$  fosfátový pufr (pH 6,6), acetoniol (1:1), průtok  $10 \mu\text{l min}^{-1}$ .

V pulzním režimu se však významně zlepšila reprodukovatelnost opakovaných měření dopaminu. V případě biamprometrické detekce na Pt a C elektrodách poklesl proud díky pulzní detekci  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  dopaminu na 50 % původní hodnoty, zatímco při pulzní biamprometrii zůstával konstantní (Obč. 2). Je zřejmé, že střídavá změna napětí na elektrodách napomáhá čistší elektrodevidní povrchu a udržuje nízký rozsah povrchové elektrody. Vytváření nových karmů měří je prostřednictvím způsobem rychlejší oscilacími změny napětí na elektrodách. Svůj podíl na pravidelných skocích máže mít i soustavní karmů mikroelektrod v kapiláře, které se pak mohou volně pohybovat v proudu nosného roztoku při střídání kladného a záporného napětí.



**Obč. 2.** Opakování měření  $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  dopaminu v příložkové injekční analýze a) v biamprometrickou a b) v pulzní biamprometrickou detekci na Pt a C mikroelektrodách. Šipky udávají trend jednotlivých měření. Ostatní podmínky jako na Obč. 1.

## Závěr

Výsledky analytické parametry biamprometrické detekce v navrženém makroupřádaném režimu srovnatelné s dosud používanými elektrochemickými metodami pro stanovení dopaminu, nicméně několik výhod této techniky poskytuje. Jednotlivé mikroelektrody lze

Jednotlivé vkládá do kapilár v malém vnitřním průměru a připraví tak levné elektrochemické detektory např. pro kapilární HPLC s monolitickými kolonami. Pokud detekci předchází separační krok, je možné pomocí vyšších hodnot detekčního napětí zanesením také quasi-reverzibilní redoxní procesy. Pro detekci není potřeba klasická referenční elektroda, a tudíž odpadá potřeba při její minimalizaci a udržování stability konstantního potenciálu, případně namísto konstruovat speciální přístrojové cely. Pokud kompromisně lze spolu s redoxním cyklováním využít kladevým zvýšením citlivosti měření vaniloidůpach obsahujících mikroelektrody nebo propletení elektrodová pole.

## Poděkování

Auťařů díkují za finanční podporu Grantové agentury Āeska republiky v rámci projektu č. 14-22426S.

## References

1. Rahimi M., Mikkelsen S. R.: *Anal. Chem.* **82**, 1779 (2010).
2. Rahimi M., Mikkelsen S. R.: *Anal. Chem.* **83**, 3555 (2011).
3. Li L. J., Hao C., Chen Q. F., Huang W. Y., Kong H. X., Wu J. L.: *Chinese J. Anal. Chem.* **34**, 1129 (2006).
4. Li L. J., Chen Q. F., Cheng H., Yu L. B., Wu J. L.: *Chinese Chem. Lett.* **39**, 703 (2008).
5. Wang Y., Yao G., Zhu F., Hu X., Xu Q., Yang C.: *Talanta* **52**, 1580 (2010).
6. Lijun L., Lubo Y., Hao C., Qifeng C., Fengmin W., Tian C., Xiangyong Z., Hongqing K., Jianling W.: *Anal. Lett.* **40**, 3290 (2007).
7. de Paula N. T. G., Barbosa E. M. O., da Silva P. A. B., de Souza G. C. S., Nascimento V. B., Lacerda A. F.: *Food Chem.* **203**, 183 (2016).
8. Chu K. H., Qin Y., Meyerhoff M. E.: *Electroanalysis* **27**, 676 (2015).
9. Lucina K., Vavřinský P., Bednář P., Tomková L., Škládál P.: *ChemElectroChem* **3**, 877 (2016).
10. Li J., Zhang C.: *Microworld. Acta* **144**, 119 (2004).
11. Mládková S., Kerkerová I., Derrico R., Ruzsanyák V.: *Talanta* **71**, 213 (2007).
12. Mládková S., Kerkerová I., Nádler M.: *Talanta* **77**, 322 (2008).
13. Neto F. F. G., Lima R. S., Lynn W. S., Marino G., Araújo M. C. U., Medeiros E. P., Nascimento V. B.: *Anal. Lett.* **48**, 3079 (2007).
14. Mann T. S., O'Hagan L., Erd P., Sparks D. L., Mikkelsen S. R.: *Anal. Chem.* **80**, 2988 (2008).
15. David D., Gato I. G. R.: *Talanta* **65**, 429 (2005).
16. Wolfram B., Kitzhöfen E., Valcarenko A., Kruse K. J., Adly N., Höske M., Rindler P.: *Acc. Chem. Res.* **49**, 2031 (2016).
17. García-Mateo J. Y., Kojko A.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **15**, 3821 (1997).
18. Wolyński E., Kojko A.: *J. Trace Microprobe Tech.* **21**, 217 (2001).
19. Zhang F., Dryhurst G.: *Bioorg. Chem.* **27**, 392 (1999).