

## LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

### STANOVENÍ AMINONAFTALENŮ A AMINOBIFENYLŮ KAPALINOVOU CHROMATOGRAPHIÍ S AMPEROMETRICKOU DETEKCI NA DIAMANTOVÉ FILMOVÉ ELEKTRODĚ

JOSEF CVAČKA<sup>a</sup>, GREG M. SWAIN<sup>b</sup>, JIŘÍ BAREK<sup>c</sup>  
a JIŘÍ ZIMA<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, <sup>b</sup>Department of Chemistry, Michigan State University, 320 Chemistry Building, East Lansing, MI 48824-1322, U.S.A., <sup>c</sup>UNESCO laboratorň elektrochemie životního prostředí, Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 2030, 128 43 Praha 2  
e-mail: cvacka@uochb.cas.cz

Došlo dne 8.VI.2001

**Klíčová slova:** diamantová filmová elektroda, elektrochemická detekce, kapalinová chromatografie, aminobifenyly, aminonafthaleny

### Úvod

Uhlíkové elektrodové materiály (skelný uhlík, uhlíková vlákna, grafit) jsou běžně používány pro elektroanalytická měření. Tyto materiály mají obdobné vnitřní uspořádání – ve své struktuře obsahují šestičlenné kruhy uspořádané do vrstev, přičemž každý uhlíkový atom je vázán pomocí hybridních  $sp^2$  orbitalů se třemi sousedními atomy. Zbývající  $2p_z$  orbitaly vytvářejí systém delokalizovaných  $\pi$  elektronů, zajišťující elektrickou vodivost. Jednotlivé materiály se od sebe liší zejména velikostí a uspořádáním krystalických domén. Povrch těchto materiálů je nehomogenní a obsahuje množství funkčních skupin, nejčastěji karbonylové a hydroxyskupiny. Elektrochemické vlastnosti těchto materiálů byly studovány během posledních tří desetiletí, a proto je poměrně hodně známo o vztazích mezi strukturou materiálu a jeho reaktivitou<sup>1-3</sup>. Zcela jiná situace je u elektrodových materiálů na bázi diamantu.

Problematika využití diamantových elektrod pro elektroanalytická měření se začala intenzivně zkoumat teprve v poslední době, první práce v této oblasti byly publikovány v osmdesátých letech<sup>4,5</sup>. Strukturální uspořádání atomů v krystalové struktuře diamantu je zcela odlišné od uspořádání atomů v materiálech na bázi grafitu. Každý atom uhlíku je vázán prostřednictvím svých  $sp^3$  hybridizovaných orbitalů s dalšími čtyřmi atomy, a vytváří se tak pravidelné tetraedry. Diamant se vyznačuje mimořádnou mechanickou i chemickou stabilitou. Je jedním z nejlepších přírodních izolátorů a pro jeho elektroanalytické využití<sup>6-8</sup> je nutné jej dopovat atomy jiných prvků. Dopování se nejčastěji provádí atomy bóru a podle koncentrace dopantu lze získat diamant s polovodivými nebo poloko-

vovými vlastnostmi. Pokud je koncentrace atomů bóru vyšší než celková koncentrace donorů (např. dusíkových atomů), vykazuje diamantový materiál vodivost typu  $p$ .

Nejčastěji jsou diamantové elektrody používány ve formě tenkých polykrystalických filmů. Diamantové filmy se připravují<sup>6,7</sup> chemickou depozicí par (CVD – chemical vapor deposition) při použití zhavených vláken nebo mikrovlnného ohřevu. K depozici diamantového filmu je nejčastěji používána směs methanu a vodíku při objemovém poměru C/H 0,5 až 2,0 % a tlaku 10 až 100 torr. Další parametry systémů jsou: teplota nosiče 800 až 1000 °C, výkon mikrovlnného zdroje 1000 až 1300 W, případně teplota vlákna ~2100 °C. Atomární vodík přítomný v reaktoru zabraňuje depozici nenасыcených  $sp^2$  hybridizovaných uhlíkových struktur. Potlačuje se tak vznik grafitického uhlíku v diamantovém filmu. Dopování bórem je dosaženo přidáváním diboranu do směsi plynů, případně je možno použít pevný nitrid bóru, který za podmínek panujících v plazmovém hořáku postupně reaguje s atomárním vodíkem na diboran. Koncentrace atomů bóru v diamantovém filmu mohou dosáhnout až 10 000 ppm B/C, diamantový film pak vykazuje rezistivitu menší než 0,1  $\Omega$ .cm. Zajímavé je, že při použití pevného nitridu bóru je do krystalické mřížky diamantu zabudováno jen velmi málo atomů dusíku. Jako nosič se nejčastěji používá destička z křemíku s nízkým odporem, lze použít i wolfram nebo molybden. Destičku je nutno předem očistit a přeleštit brusnou směsí složenou z diamantového prášku a  $B_2O_3$ . Zachycené částice slouží jako krystalizační centra pro růst diamantového filmu. Rychlost tvorby diamantového filmu za popsanych podmínek je zhruba 0,1 až 1,0  $\mu\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ , depozice filmů o tloušťce několik mikrometrů tak trvá řádově 24 hodin. Tímto způsobem je možno vyrobit diamantové filmy o ploše až několik  $\text{cm}^2$ . Vzniklé filmy jsou polykrystalické, s ostrými, dobře vyvinutými krystaly o velikosti 0,5 až 3  $\mu\text{m}$ .

Diamantové filmy poskytují v Ramanových spektrech charakteristický pás při 1332  $\text{cm}^{-1}$ , odpovídající fononové linii prvního řádu<sup>9</sup>. Přítomnost amorfního uhlíku nebo nediamantových uhlíkových inkluzí se v těchto spektrech projeví při 1500 až 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Kvalitní diamantové filmy vykazují v této oblasti minimální rozptyl.

Ve srovnání s ostatními uhlíkovými materiály se diamantové filmové elektrody (DFE) vyznačují mimořádnou stabilitou (cit.<sup>7</sup> a práce tam citované). Diamantové elektrody nevykazují známky poškození při anodické polarizaci v kyselých, neutrálních i alkalických roztocích, v přítomnosti chloridových nebo fluoridových aniontů. U diamantových filmů nebyla za zmíněných podmínek pozorována důlková koroze, zdrsnění povrchu, ani delaminace filmu. Elektrochemické vlastnosti DFE (cit.<sup>6,7</sup>) jsou ovlivněny zejména typem dopantu a jeho koncentrací, morfologickými vlastnostmi (přítomností povrchových defektů a primární krystalografickou orientací), přítomností nečistot uhlíku nemajících strukturu diamantu a druhem povrchové terminace (H, F, O aj.). Povrch diamantového filmu terminovaného vodíkem má obdobnou strukturu jako alkany, a proto má jen velmi nízkou tendenci adsorbovat polární sloučeniny z roztoku. Díky tomu jsou elektrodové

procesy, které zahrnují adsorpci intermediátů na povrch elektrody (např. vývoj vodíku, kyslíku nebo halogenů) silně zpomaleny. Vyžadují větší přepětí, aby probíhaly dostatečně rychle. Potenciálové okno, definované jako rozdíl potenciálů, při kterých dosahuje anodický i katodický proud hodnoty 50  $\mu\text{A}$ , je v neutrálních a kyselých roztocích u diamantových elektrod nejčastěji  $\sim 3,5$  V. Například v 0,5 mol.l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dochází k vývoji vodíku při  $-1,25$  V, kyslík se začíná vyvíjet při  $+2,3$  V (v. SVE)<sup>7</sup>. Potenciálové okno je značně závislé na kvalitě diamantového filmu, špičkové diamantové filmy mohou mít potenciálové okno až 4,4 V (cit.<sup>10</sup>). Pokud však diamantový film obsahuje velké množství nečistot (uhlíku nemajícího strukturu diamantu), může se velikost potenciálového okna snížit na 2,5 až 2,7 V, což je rozsah pozorovaný u skelného uhlíku nebo u pyrolytického grafitu. Diamantové elektrody díky svému širokému potenciálovému oknu umožňují provádět elektrochemické reakce při potenciálech, kterých není možno (nebo pouze s velkými obtížemi) dosáhnout jiným způsobem. Uvnitř potenciálového okna vykazují diamantové filmy velmi nízké hodnoty kapacity elektrické dvojvrstvy, 1 až 5  $\mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Pro skelný uhlík byly zjištěny hodnoty 30 až 40  $\mu\text{F}\cdot\text{cm}^{-2}$ . Předností diamantových filmových elektrod je i podstatně nižší zbytkový proud a šum ve srovnání např. se skelným uhlíkem. To má za následek podstatné vylepšení poměru signál/šum, a tedy i meze detekce.

Amperometrická detekce aminonaftalenů a aminobifenylů na elektrodách ze skelného uhlíku (GCE) patří dnes mezi běžně používané metody v HPLC a FIA. Aminonaftaleny a aminobifenylu jsou stanovovány v různých matricích, např. v dehtu<sup>11</sup>, mořské vodě<sup>12</sup>, kůži hlodavců<sup>13</sup> a jako příměsi v průmyslových chemikáliích<sup>14</sup>. Separace látek je dosahováno na reverzních fázích ve směsích methanolu nebo acetonitrilu s pufrům při pH nižších než 6,0. Půlvolný potenciál jednotlivých látek závisí na pH a složení mobilní fáze, pro měření se nejčastěji používá potenciál  $+0,9$  V (v. Ag/AgCl). Meze detekce se pohybují od  $2\cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup> do  $2\cdot 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup>. Práce, zabývající se detekcí nebo mechanismem oxidace aminonaftalenů a aminobifenylů na diamantových filmových elektrodách (DFE) dosud publikovány nebyly. V současné literatuře je však možno nalézt publikace věnující se stanovení některých strukturálně blízkých látek metodou FIA. Elektrochemickou oxidací polyaminů na polykrystalických DFE v průtokové injekční analýze se zabývali Koppang a spol.<sup>15</sup> V prostředí uhličitnanového pufru o pH 10,0 a vloženém potenciálu  $+0,78$  V (v. Ag/AgCl) látky poskytovaly signál lineárně závislý na koncentraci v rozmezí  $1\cdot 10^{-6}$  až  $1\cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup>. Hydrazin<sup>16</sup> lze stanovit pomocí FIA v prostředí 0,1 mol.l<sup>-1</sup> NaOH při vloženém potenciálu  $+0,75$  V (v. Ag/AgCl). Lineární kalibrační závislosti byly získány pro koncentrace hydrazinu  $1\cdot 10^{-7}$  až  $3\cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup>, mez detekce byla  $2\cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>. Granger a spol.<sup>8</sup> publikovali FIA stanovení dopaminu s lineární koncentrační závislostí v rozmezí  $1\cdot 10^{-7}$  až  $3\cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup> a mez detekce  $3\cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup> v prostředí 0,1 mol.l<sup>-1</sup> fosfátového pufru (pH 7,2) při vloženém potenciálu  $+0,5$  V (v. Ag/AgCl). Stejní autoři<sup>8</sup> se věnovali stanovení chlorpromazinu v systému FIA. V prostředí 0,01 mol.l<sup>-1</sup> HClO<sub>4</sub> a při  $+0,8$  V (v. Ag/AgCl) naměřili lineární kalibrační přímky pro koncentrace  $3\cdot 10^{-7}$  až  $3\cdot 10^{-3}$  mol.l<sup>-1</sup>, mez detekce byla  $4\cdot 10^{-9}$  mol.l<sup>-1</sup>. Serotonin<sup>17</sup> lze v metodě FIA rovněž detegovat amperometricky na DFE s mezí detekce  $1\cdot 10^{-8}$  mol.l<sup>-1</sup>.

V této práci jsou shrnuty výsledky srovnání DFE a klasické

elektrody ze skelného uhlíku jako pracovních elektrod pro amperometrickou detekci aminonaftalenů a aminobifenylů v kapalínové chromatografii. Jako modelové sloučeniny byly zvoleny 1-aminonaftalen (1-AN) a 2-aminobifenyl (2-AB), které patří mezi často stanovované genotoxické látky.

## Experimentální část

### Přístroje a zařízení

Průtokový systém pro měření ve FIA a HPLC režimu byl sestaven z vysokotlakého čerpadla MILTON ROY ConstaMetric III (LDC Analytical, USA), autosampleru 717plus (Waters, USA), elektrochemického detektoru s tenkovrstvou celou BAS CC-5 (Bioanalytical Systems, Inc., USA), potenciostatu OMNI 90 (Cypress Systems, Inc., USA) a zapisovače Servogor 124 (LEM Instruments, Inc., USA). V systémech FIA byl mezi pumpu a dávkovač zařazován tlumič pulzů vyrobený z plastové nádoby naplněné skleněnými kuličkami a otočené dnem vzhůru. Tlumení zajišťoval malý objem stlačeného vzduchu v horní části nádoby. V případě HPLC měření byla do systému zařazena kolona Adsorbosphere HS C18 (150 × 4,6 mm, 7  $\mu\text{m}$ , Alltech USA). Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty, kolona nebyla termostatována. Kostry všech přístrojů byly vzájemně spojeny a uzemněny do společného bodu.

Průtoková měřicí cela byla zapojena tříelektrodově. Pracovní elektrodou byla destička ze skelného uhlíku GC-30 (Tokai Ltd., USA) o rozměrech zhruba 15 × 10 mm nebo křemíková destička s diamantovým filmem obdobných rozměrů. Efektivní plochu elektrody určoval otvor v 1 mm silném neoprenovém těsnění, jehož rozměry 9 × 1,5 mm byly stejné při všech experimentech. Pokud uvažujeme 10% stlačení gumového těsnění, byl objem měřicí cely přibližně 12  $\mu\text{l}$ . Jako pomocná elektroda sloužilo nerezové tělo měřicí cely a referentní elektroda byla argentchloridová. GCE byla před každým měřením opláchnuta destilovanou vodou, 3 minuty leštěna na sametové tkanině brusným práškem (Alumina, Buehler Micropolish II, 0,05  $\mu\text{m}$ , USA), opláchnuta destilovanou vodou a sonikována dvakrát 10 min ve vodě. Po opětovném opláchnutí destilovanou vodou a vysušení byla připravena k měření. Použitá elektroda D121698 byla tvořena polykrystalickým diamantovým filmem dopovaným atomy bóru s dobře vyvinutými krystaly o velikosti 0,5 až 3  $\mu\text{m}$  na křemíkovém nosiči. Ramanova spektra vykazovala intenzivní pás při 1332  $\text{cm}^{-1}$ , rozptýl při 1500–1600  $\text{cm}^{-1}$ , typický pro nečistoty amorfního uhlíku nemající strukturu diamantu, byl velmi nízký. DFE byla před každým měřením pouze opláchnuta destilovanou vodou a vysušena.

### Reagencie

Zásobní roztoky modelových sloučenin 1-aminonaftalenu (Fluka, >99 %) a 2-aminobifenylu (Aldrich, 97 %) o koncentraci  $1\cdot 10^{-2}$  mol.l<sup>-1</sup> byly připraveny v methanolu (Fisher Scientific, USA). Roztoky o nižších koncentracích byly připraveny ředěním zásobních roztoků methanolem nebo mobilní fází. Pro přípravu mobilních fází a roztoků standardů byla používána deionizovaná voda (E-pure, Barnstead, USA), methanol a acetonitril chromatografické čistoty (Fisher Scien-

Tabulka I

Velikosti šumu (pA) a zbytkového proudu (pA) pro různé mobilní fáze při dvou různých vložených potenciálech (v. Ag/AgCl)

Mobilní fáze	GCE (+0,1 V)		DFE (+0,1 V)		GCE (+0,5 V)		DFE (+0,5 V)	
	šum	zbytkový proud	šum	zbytkový proud	šum	zbytkový proud	šum	zbytkový proud
I <sup>a</sup>	37	-378	7	-14	56	5301	14	518
II <sup>b</sup>	44	76	7	6	60	1446	16	657
III <sup>c</sup>	56	233	16	72	72	2992	24	1968
IV <sup>d</sup>	44	245	8	88	44	2771	2	1566
V <sup>e</sup>	44	141	9	51	40	3052	24	2370

<sup>a</sup> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> fosfátový pufr o pH 4,0; <sup>b</sup> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> fosfátový pufr o pH 7,0; <sup>c</sup> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> fosfátový pufr o pH 9,0; <sup>d</sup> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> fosfátový pufr o pH 7,0/methanol (1:1, v/v); <sup>e</sup> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> fosfátový pufr o pH 7,0/acetoniitril (1:1, v/v)

tific, USA), hydrogenfosforečnan draselný, hydroxid draselný (oba Fisher Scientific, USA) a kyselina trihydrogenfosforečná (Mallinckrodt, Inc., USA).

## Výsledky a diskuse

### Šum a zbytkový proud

Velikost šumu základní linie je významným parametrem měřicího systému. Z hlediska určení meze detekce je výhodné oddělit konstantní složku šumu od šumu nízkofrekvenčního a vysokofrekvenčního. Za konstantní složku šumu je odpovědný nabíjecí proud elektrodové dvojvrstvy a elektrochemické reakce na povrchu elektrody. Tato složka bývá označována jako zbytkový proud a toto označení je používáno i v této práci. Vysoká hodnota zbytkového proudu omezuje prakticky použitelný potenciálový rozsah a klade vyšší přístrojové nároky na jeho kompenzaci. Ostatní složky šumu souvisí mimo jiné s homogenitou elektrodového povrchu a přímo ovlivňují meze detekce analytů. V této práci jsou tyto složky shrnuty pod pojmem šum.

Dosud publikované práce<sup>2,4</sup> dokumentují nízký šum na DFE v prostředí vodných roztoků solí. V následujících experimentech bylo zjišťováno, zda podobně nízký šum a zbytkový proud je pozorován i v případě běžně používaných mobilních fází pro HPLC a FIA, tj. pufrů a jejich směsí s organickými modifikátory. Vliv elektrody na sledované parametry byl zjišťován v systému FIA pro fosfátové pufrы o koncentracích 0,1 mol.l<sup>-1</sup> a jejich směsi s methanolem a acetoniitrem. Při průtoku 1 ml.min<sup>-1</sup> a dvou vložených potenciálech +0,1 V a +0,5 V v. Ag/AgCl byl šum i zbytkový proud odečítán přesně po 1 hodině od vložení příslušného potenciálu na elektrodový systém. Velikost šumu byla měřena jako absolutní velikost rozkmitu základní linie v jednotkách proudu, zbytkový proud pak jako velikost proudu základní linie odečítaná od polohy písátka zapisovače při rozpojeném elektrickém obvodu. Naměřené hodnoty jsou uvedeny v tab. I.

Z tabulky je zřejmé, že diamantová elektroda vykazuje ve srovnání s GCE nižší hodnoty šumu i zbytkového proudu pro všechny mobilní fáze. Nižší hodnota šumu u DFE je dána malým množstvím povrchových funkčních skupin schopných elektrochemické reakce na poměrně homogenním povrchu diamantového filmu. Nízká hodnota zbytkového proudu rovněž souvisí s odlišnými vlastnostmi povrchů obou elek-

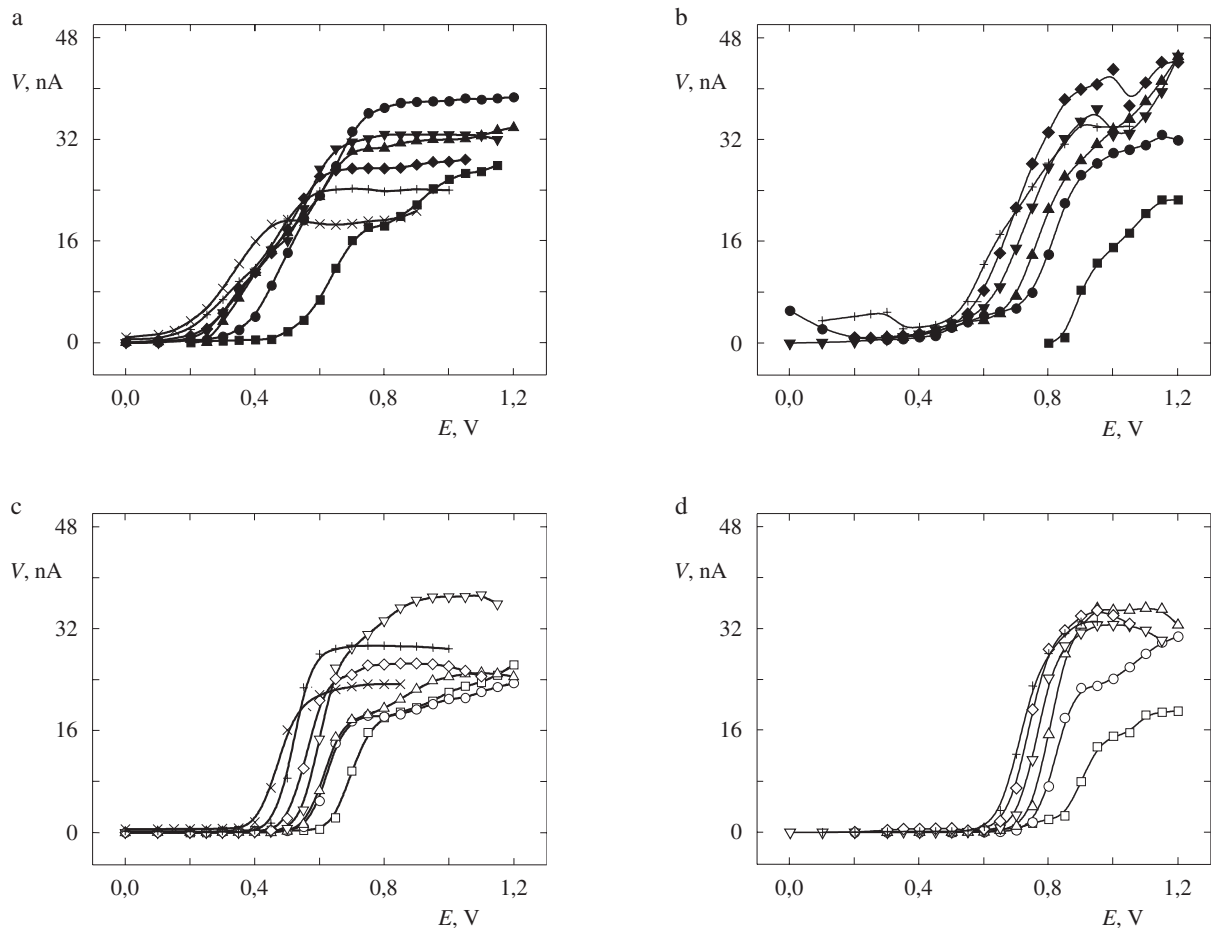
trodových materiálů, jejichž elektrické dvojvrstvy mají odlišnou kapacitu. Přítomnost organického modifikátoru a pH mobilní fáze výrazněji neovlivňují hodnoty šumu u žádné z elektrod. Zbytkový proud u GCE i DFE je značně ovlivněn hodnotou pH, vliv má i přítomnost organického modifikátoru. Rozdíly ve zbytkovém proudu mezi diamantem a skelným uhlíkem jsou výraznější při nižším vloženém potenciálu +0,1 V v. Ag/AgCl a více se projevují s klesajícím pH mobilní fáze.

### Hydrodynamické voltamogramy

Hydrodynamické voltamogramy poskytují základní představu elektrochemického chování studovaných analytů v průtokovém systému. Jejich znalost umožňuje optimalizovat podmínky detekce, zejména vybrat vhodnou mobilní fázi a zvolit nejvýhodnější vložený potenciál.

Měření hydrodynamických voltamogramů 1-AN a 2-AB byla prováděna v systému FIA v mobilních fázích obsahujících 50 % methanolu a 50 % fosfátového pufru o koncentraci 0,05 mol.l<sup>-1</sup>, jehož pH bylo upraveno na požadovanou hodnotu pomocí roztoků H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> nebo NaOH. Průtok mobilní fáze byl 1,0 ml.min<sup>-1</sup>. Každý bod hydrodynamického voltamogramu odpovídá průměrné výšce píku vypočítané z 10 nástříků 20 μl roztoku analytu připraveného v příslušné mobilní fázi (koncentrace 1.10<sup>-6</sup> mol.l<sup>-1</sup>). Uváděné hodnoty potenciálů jsou vztaženy k argentchloridové referenční elektrodě.

Z obr. 1 je patrné, že průběh hydrodynamických voltamogramů 1-AN není na obou typech elektrod totožný. 1-AN poskytuje ve všech mobilních fázích na obou elektrodách jednu hlavní vlnu, přičemž v kyselých prostředích se navíc objevuje při pozitivnějších potenciálech ještě druhá vlna. Vlny na skelném uhlíku jsou ve srovnání s vlnami naměřenými na diamantu položenější, což zřejmě souvisí s větší odporem elektrody ze skelného uhlíku. Půlvolný potenciál se snižuje zhruba o 30 mV (DFE) a o 39 mV (GCE) na jednotku pH se vzrůstající hodnotou pH mobilní fáze, přičemž hodnoty půlvolných potenciálů jsou na diamantové elektrodě vyšší v průměru o 100 mV. Tento rozdíl půlvolných potenciálů je zřejmě způsoben nízkou adsorpcí meziproductů elektrochemické oxidace 1-AN na povrchu diamantového filmu, a proto je nutné vyšší přepětí, aby reakce probíhala dostatečně rychle. Výšky vln 1-AN nejsou příliš rozdílné na obou typech elektrod, nejvyšší vlna byla pozorována v případě DFE při pH 6,0, v případě GCE při pH 4,0.



Obr. 1. Hydrodynamické voltamogramy 1-aminonaftalenu (a, c) a 2-aminobifenylu (b, d) naměřené pomocí diamantové filmové elektrody (c, d) a elektrody ze skelného uhlíku (a, b) v mobilních fázích methanol/fosfátový pufr (1:1, v/v), pH pufru: □ pH 2, ○ pH 4, Δ pH 5, ▽ pH 6, ◇ pH 7, + pH 8 a ■ pH 2, ● pH 3, ▲ pH 5, ▼ pH 6, ◆ pH 7, + pH 8, × pH 10, V – výška píku, E – vložený potenciál

V případě 2-AB bylo pozorováno obdobné chování analytu na obou typech elektrod jako v případě 1-AN (obr. 1). 2-AB poskytuje jednu až dvě vlny v závislosti na pH mobilní fáze a jeho vlny na skelném uhlíku jsou více položeny. S rostoucím pH klesá půlvlnový potenciál 2-AB na diamantovém filmu v průměru o 32 mV na jednotku pH a na skelném uhlíku o 45 mV na jednotku pH. V rozmezí pH 5,0 až 8,0 jsou půlvlnové potenciály 2-AB na DFE posunuty o 50 mV oproti půlvlnovým potenciálům naměřeným na GCE. Maximálního signálu je dosaženo při pH mobilní fáze 5,0 (diamant) a 7,0 (skelný uhlík).

#### Stabilita signálu – opakovatelnost měření

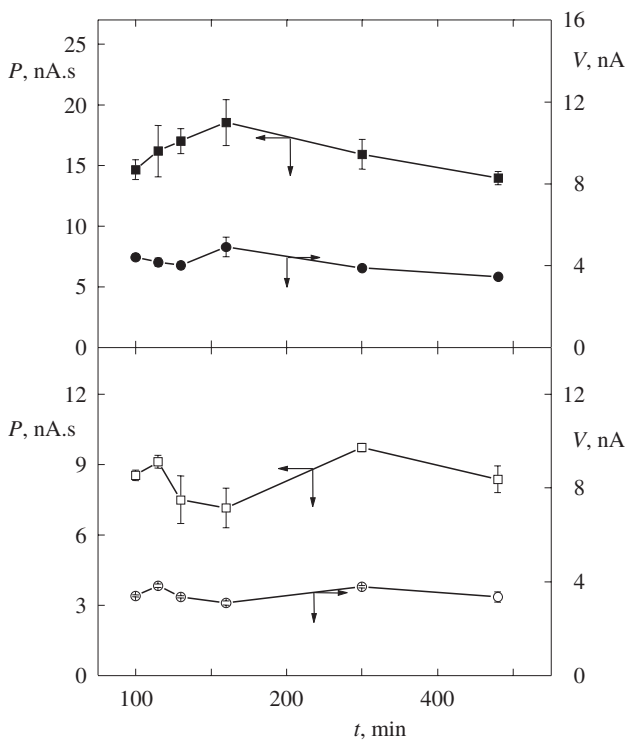
Nezbytnou podmínkou pro praktické využití analytické metody je dostatečná opakovatelnost a časová stabilita signálu. Stabilita signálu v průtokovém systému s diamantovou indikační elektrodou byla srovnávána se stabilitou signálu v systému s elektrodou ze skelného uhlíku. K měření byl použit roztok 1-AN o koncentraci  $1.10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> připravený v mobilní fázi. Jako mobilní fáze byly vybrány ty, u nichž byl

pozorován nejvyšší signál analytu. Pro systém s DFE byla zvolena mobilní fáze methanol/fosfátový pufr pH 6,0 (1:1, v/v) a pro systém s GCE mobilní fáze methanol/fosfátový pufr pH 4,0 (1:1, v/v). Při průtoku 1 ml.min<sup>-1</sup> bylo ve zvolených časových intervalech 10× nastříkáváno 20 μl roztoku 1-AN do systému v režimu FIA. První série píků byla nastříknuta až po dostatečném ustálení základní linie, tj. zhruba po dvou hodinách od vložení napětí na elektrodový systém. Výsledky jsou zobrazeny na obr. 2.

Během trvání experimentu (celkem 8 hodin) došlo k poklesu signálu 1-AN o 2 % u DFE a o 5 % u GCE. Tyto hodnoty jsou však vzhledem k relativní směrodatné odchylce nízké a lze říci, že nedochází ke statisticky významným změnám signálu. Průměrná relativní směrodatná odchylka z 10 nástřiků činila pro diamant 6,6 % z plochy a 2,5 % z výšky, pro skelný uhlík 7,7 % z plochy a 4,8 % z výšky. Celková relativní směrodatná odchylka vypočítaná ze všech nástřiků během experimentu byla pro diamant 12,7 % z plochy a 8,1 % z výšky, pro skelný uhlík 12,5 % z plochy a 12,2 % z výšky.

Pokud uvážíme velmi nízkou koncentraci analytu, použité experimentální zařízení a dlouhou dobu trvání tohoto experimentu, lze konstatovat dobrou stabilitu signálu 1-AN na obou





Obr. 2. Stabilita výšky ( $V$ ) (●, ○) a plochy ( $P$ ) (■, □) píku 1-aminonaftalenu na diamantové filmové elektrodě (○, □) a elektrodě ze skelného uhlíku (●, ■), podmínky měření jsou uvedeny v textu

typech elektrod. Ze vzájemného srovnání vychází lépe diamantová elektroda, vykazující nižší hodnoty relativních směrodatných odchylek.

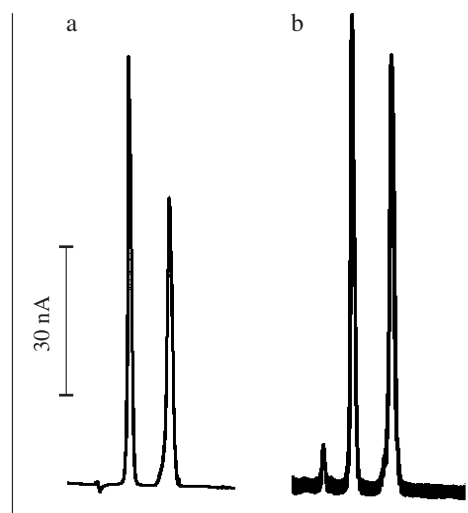
Tabulka II

Parametry kalibrační přímky a meze detekce 1-aminonaftalenu a 2-aminobifenyly

Analyt	Elektroda	R	Směrnice [mA.l.mol <sup>-1</sup> ]	Úsek [nA]	Mez detekce [mol.l <sup>-1</sup> ]
1-AN	DFE	0,9993	5,65±0,06	4,6±2,1	1,3.10 <sup>-7</sup>
	GCE	0,9999	7,43±0,03	-0,1±1,2	6,4.10 <sup>-7</sup>
2-AB	DFE	0,9981	3,17±0,05	5,9±1,9	1,2.10 <sup>-7</sup>
	GCE	0,9955	4,49±0,13	10,5±5,3	8,2.10 <sup>-7</sup>

#### SeparáčnÍ metoda a koncentračnÍ závislosti

Separace směsi 1-AN a 2-AB v reverzním chromatografickém systému na oktadecylové koloně Adsorbosphere HS C18 byla pozorována v mobilní fázi methanol/0,01 mol.l<sup>-1</sup> fosfátový pufr o pH 6,0 (3:7, v/v). Retenční časy při průtoku 1,5 ml.min<sup>-1</sup> byly pro 1-AN 2,1 min ( $k = 0,75$ ) a pro 2-AB 3,5 min ( $k = 1,90$ ). Vyšší šum základní linie u elektrody ze



Obr. 3. Chromatogram směsi 1-aminonaftalenu ( $t_R = 2,1$  min) a 2-aminobifenyly ( $t_R = 3,5$  min) naměřený pomocí diamantové filmové elektrody (a) a elektrody ze skelného uhlíku (b), podmínky měření jsou uvedeny v textu

skelného uhlíku při zhruba stejné velikosti signálu je dobře patrný z obr. 3.

Pro oba analyty byly proměřeny kalibrační závislosti v koncentračním rozsahu  $1.10^{-7}$  až  $1.10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup>. K amperometrické detekci byla použita jak DFE, tak GCE. Kalibrační závislosti byly lineární na obou elektrodách v celém měřeném koncentračním rozsahu. Korelační koeficienty lineární regrese jsou srovnatelné, citlivost (směrnice kalibrační závislosti) je vyšší pro GCE (tab. II). Mez detekce byla spočítána jako koncentrace poskytující signál rovný trojnásobku absolutní hodnoty šumu. Díky podstatně nižším hodnotám šumu je mez detekce  $5 \times$  až  $7 \times$  nižší na diamantové filmové elektrodě.

Autoři děkují za finanční podporu Grantové agentuře Univerzity Karlovy (grant č. 253/2001/B-CH/PrF).

#### LITERATURA

- McCreery R. L., v knize: *Electroanalytical Chemistry* (Bard A. J., ed.), sv. 17. Marcel Dekker, New York 1991.
- Kneten K. R., McCreery R. L.: *Anal. Chem.* 64, 2518 (1992).
- Chen P., Fryling M. A., McCreery R. L.: *Anal. Chem.* 67, 3115 (1995).
- Iwaki M., Sato S., Takahashi K., Sakairi H.: *Nucl. Instrum. Methods* 209, 1129 (1983).
- Pleskov Y., Sakharova A., Krotova M. D., Bouilov L., Spitsyn B. V.: *J. Electroanal. Chem.* 228, 19 (1987).
- Xu J., Granger M. C., Chen Q., Strojek J. W., Lister T. E., Swain G. M.: *Anal. Chem.* 69, 591A (1997).
- Swain G. M., Anderson A. B., Angus J. C.: *MRS Bulletin* 23, 56 (1998).
- Granger M. C., Xu J., Strojek J. W., Swain G. M.: *Anal. Chim. Acta* 397, 145 (1999).
- Dennison J. R., Holtz M. W., Swain G. M.: *Spectroscopy* 10, 38 (1996).

10. Granger M. C., Witek M., Xu J., Wang J., Hupert M., Hanks A., Koppang M. D., Butler J. E., Lucazeau G., Mermoux M., Strojek J. W., Swain G. M.: *Anal. Chem.* **72**, 3793 (2000).
11. Otagawa T., Stetter J. R., Zaromb S.: *J. Chromatogr.* **360**, 252 (1986).
12. Varney M. S., Preston M. R.: *J. Chromatogr.* **348**, 265 (1985).
13. Felice L. J., Schirmer R. E., Springer D. L., Veverka C. V.: *J. Chromatogr.* **354**, 442 (1986).
14. Olek M.: *J. Chromatogr.* **447**, 421 (1988).
15. Koppang M. D., Witek M., Blau J., Swain G. M.: *Anal. Chem.* **71**, 1188 (1999).
16. Xu J., Swain G. M., Ononye A. I.: nepublikované výsledky (1999).
17. Sarada B. V., Rao T. N., Tryk D. A., Fujishima A.: *Chem. Lett.* **11**, 1213 (1999).

**J. Cvačka<sup>a</sup>, G. M. Swain<sup>b</sup>, J. Barek<sup>c</sup>, and J. Zima<sup>c</sup>**  
(<sup>a</sup>*Department of Natural Products, Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague*, <sup>b</sup>*Department of Chemistry, Michigan State*

*University, Lansing, U.S.A.*, <sup>c</sup>*UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Department of Analytical Chemistry, Charles University, Prague*): **Determination of Aminonaphthalenes and Aminobiphenyls by Liquid Chromatography with Amperometric Detection on Diamond-Film Electrode**

An amperometric detector with a diamond-film working electrode was tested for the determination of 1-aminonaphthalene and 2-aminobiphenyl by liquid chromatography. The noise, background current, signal stability, linearity of calibration curve and detection limits were compared with the parameters obtained using classic glassy carbon electrode. The signal of analytes was reproducible and stable at least for 8 h for both electrode materials. Calibration curves were linear in the whole range ( $10^{-7}$ – $10^{-4}$  mol.l<sup>-1</sup>) and the sensitivity was higher for the glassy carbon electrode. Both the background current and noise were substantially lower on the diamond-film electrode. As a result, the detection limits of analytes ( $1 \times 10^{-7}$  mol.l<sup>-1</sup> for both analytes) were 5–7 times lower for the diamond-film electrode.