

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Marcela Janovcová

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ OXIDOVATELNÝCH
DERIVÁTŮ POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH
UHLOVODÍKŮ POMOCÍ SÍTOTISKOVÉ ELEKTRODY

Voltammetric Determination of Oxidizable Derivatives of
Aromatic Hydrocarbons Using Screen Printed Electrode

Bakalářská práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Mgr. Hana Dejmková

Praha, 2012

Tato bakalářská práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR (výzkumný záměr MSM 0021620857), Univerzitou Karlovou v Praze (projekt SVV 2012-265201) a Grantovou agenturou České republiky (projekt P206/12/G151).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze 30.8.2012

Podpis:

Poděkování

Ráda bych poděkovala Mgr. Hance Dejmkové za odborné vedení, cenné rady, připomínky a veškerou pomoc při vypracování mé bakalářské práce.

Chtěla bych rovněž poděkovat všem členům katedry analytické chemie za pomoc a vytvoření příjemné pracovní atmosféry.

Děkuji také své rodině za umožnění studia na vysoké škole a za podporu během celého studia.

Abstrakt

Vývoj metod pro stanovení aminoderivátů polycyklických aromatických uhlovodíků, které budou levné, rychlé a spolehlivé, má velký význam a to nejen z hlediska analytické chemie, ale hlavně pro člověka samotného, neboť většina těchto látek jsou buďto podezřelé a nebo dokonce prokázané karcinogeny.

Tato práce se zabývá stanovením dvou prokázaných karcinogenů 2-aminonaftalenu (2-AN) a 4-aminobifenyly (4-ABP) na uhlíkových sítotiskových elektrodách (SPCE). Metodami cyklické voltametrie (CV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV) byly zkoumány vlastnosti a chování těchto elektrod. Byla sledována možnost jejich aktivace fosfátovým pufrům o hodnotě $\text{pH} = 7$ a prokázáno čištění elektrody elektrochemickým cyklováním. Pomocí DPV bylo dosaženo mezí detekce 2-AN $16 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ v prostředí B-R pufru $\text{pH} = 12$ a 4-ABP $7,3 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ v prostředí B-R pufru $\text{pH} = 12$.

Abstract

Development of the cheap, fast and reliable methods for the determination of aminoderivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons has great significance not only for analytical chemistry, but mainly for human, because most of these compounds are either suspected or even proven carcinogens.

This work deals with the determination of two proven carcinogens 2-aminonaphthalene (2-AN) and 4-aminobiphenyl (4-ABP) using screen printed carbon electrodes (SPCE). Using the methods of cyclic voltammetry (CV) and differential pulse voltammetry (DPV) properties and behavior of these electrodes were investigated. The possibility of the activation with phosphate buffer, $\text{pH} = 7$, was observed and the cleaning of the electrode using electrochemical cycling was demonstrated. Using DPV the detection limit of 2-AN $16 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ and of 4-ABP $7,3 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ was reached in B-R buffer $\text{pH} = 12$.

Klíčová hesla: voltametrie
aminoderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků
sítotisková elektroda

Klíčová slova: 2-aminonaftalen
4-aminobifenyl
DP voltametrie
cyklická voltametrie
sítotisková elektroda

Key words plus: voltammetry
aminoderivatives of polycyclic aromatic hydrocarbons
screen printed electrode

Key words: 2-aminonaphthalene
4-aminobiphenyl
DP voltammetry
cyclic voltammetry
screen printed electrode

Obsah

Seznam použitých zkratk a symbolů.....	7
1. Teoretická část.....	8
1.1 Cíl práce.....	8
1.2 APAH.....	9
1.2.1 4-aminobifenyl.....	9
1.2.2 2-aminonaftalen.....	11
1.3 Tištěné elektrody.....	12
2. Experimentální část.....	15
2.1 Studované látky.....	15
2.2 Použité chemikálie.....	17
2.3 Aparatura.....	18
2.3.1 Elektrochemické metody.....	18
2.3.2 Měření pH.....	18
2.3.3 Další použité přístrojové vybavení.....	18
2.4 Pracovní postupy.....	19
2.4.1 Aktivace elektrody.....	19
2.4.2 Voltametrické stanovení 4-ABP a 2-AN na SPCE.....	19
3. Výsledky a diskuze.....	20
3.1 Aktivace elektrody.....	20
3.2 Vlastnosti SPCE.....	22
3.2.1 Vliv pH na šířku potenciálového okna základního elektrolytu.....	22
3.2.2 Cyklická voltametrie.....	23
3.3 DP voltametrické stanovení 2-AN a 4-ABP na SPCE.....	27
3.3.1 Vliv pH.....	27
3.3.2 Koncentrační závislost.....	31
4. Závěr.....	34
5. Literatura.....	35

Seznam použitých zkratk a symbolů

2-AN	2-aminonaftalen
2-ABP	2-aminobifenyl
3-ABP	3-aminobifenyl
4-ABP	4-aminobifenyl
APAH	aminoderivát polycyklického aromatického uhlovodíku
B-R pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
C.A.S	Chemical Abstracts Service
CPE	uhlíková pastová elektroda
CV	cyklická voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
E_p	potenciál píku
I_p	proud píku
L_D	mez detekce
M_r	relativní molekulová hmotnost
NPAH	nitrovaný polycyklický aromatický uhlovodík
SPCE	uhlíková tištěná elektroda
SPE	tištěná elektroda
ZE	základní elektrolyt

1. Teoretická část

1.1 Cíl práce

Předkládaná bakalářská práce se zabývá studiem voltametričkého chování oxidovatelných derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků na sítotiskových elektrodách.

Cílem této práce byla optimalizace metody pro stanovení aminoderivátů polycyklických aromatických uhlovodíků (APAH) – konkrétně 4-aminobifenyly (4-ABP) a 2-aminonaftalenu (2-AN) – pomocí uhlíkových tištěných elektrod (SPCE) a dosažení co nejnižší meze detekce.

Za tímto účelem byly využity techniky cyklické voltametrie (CV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV).

1.2 APAH

Aminoderiváty polycyklických aromatických uhlovodíků (APAH) jsou sloučeniny, které se často vyskytují jak v pracovním tak i v životním prostředí^[1]. Spolu s nitrovanými polycyklickými aromatickými uhlovodíky (NPAH) tvoří dvě důležité skupiny derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH), které by měly být brány v potaz z hlediska kvality životního prostředí. APAH jsou totiž známé chemické karcinogeny a metabolity NPAH, což jsou látky, které jsou také spojované se zvýšeným rizikem rakoviny. APAH proto mohou sloužit jako biomarkery expozice NPAH^[1] a proto by jejich výskyt a koncentrace měly být pečlivě sledovány.

Dříve byly značně využívány při výrobě barviv, jako přísady do polymerních a pryžových směsí nebo jako meziprodukty při výrobě technických chemikálií – např. pesticidů, léků, barviv, polymerů a tenzidů^[2]. Od tohoto uplatnění APAH se upustilo poté, co se objevily zprávy o jejich vysoké toxicitě a možné karcinogenitě.

APAH byly nalezeny v syntetických palivech, v jejich vedlejších produktech^[3] a v některých uhelných materiálech^[4]. Následně bylo zjištěno, že jsou to nejvíce mutagenní složky^[3] těchto produktů. Jejich identifikace v těchto palivech je proto velmi důležitá pro vývoj bezpečnějších a k životnímu prostředí šetrnějších druhů paliv^[4].

Z analytického hlediska je výhodné to, že aromatické aminy jsou snadno anodicky oxidovatelné a proto mohou být stanoveny pomocí voltametrie^[5].

1.2.1 4-aminobifenylyl

4-ABP je aromatický amin, který je hlavním původcem rakoviny močového měchýře^[6]. Navíc mu bývá připisováno ještě spojení s rakovinou plic, tlustého střeva a prsu^[7]. Karcinogenita 4-ABP je spojena s její strukturou. Ze tří izomerů aminobifenylylu, tedy 2-aminobifenylylu (2-ABP), 3-aminobifenylylu (3-ABP) a 4-ABP je pouze 4-ABP silně karcinogenní^[8]; byl klasifikován IARC jako karcinogen skupiny 1 (existují dostatečné důkazy o karcinogenitě u lidí)^[9].

Důvodem jeho karcinogenity je cesta a produkt metabolizace 4-ABP, která

probíhá v játrech cytochromem P4501A2 (CYP1A2). Vzniká N-hydroxyaminobifenyl, což je mutagen, který je schopen indukovat tumory v místě aplikace. Byl proveden experiment, při kterém byl 4-ABP podáván psům. Bylo zjištěno, že vzniká N-(deoxyguanosin-8-yl)-4-aminobifenyl (dG-C8-ABP), což je hlavní DNA adukt v buňkách jater a močového měchýře^[10]. Tyto 4-ABP-DNA adukty představují poškození DNA, která mohou mít v konečném důsledku za následek mutaci a nádorové iniciace^[11]. Tento experiment byl proveden nejen na psech, ale i na jiných zvířatech – myších a králících. Výsledkem tohoto pokusu bylo, že po perorálním podání 4-ABP se objevily tumory močového měchýře a jater i u myši a papilomy a karcinomy močového měchýře u králíků^[12].

Nebezpečí 4-ABP spočívá v tom, že je to látka, která má tendenci přetrvávat v prostředí, kde se může stát zdravotním rizikem. Do vodního prostředí se dostává vypouštěním průmyslové odpadní vody, ve které může být často detekován^[13]. Do ovzduší se zase dostává zejména z cigaretového kouře a spalování fosilních paliv^[6]. Je proto patrné, že ohroženy jsou nejen vodní organismy^[13] ale i ty ostatní.

Člověk je vystaven primární expozici 4-ABP kožním kontaktem, inhalací a požitím. Je prokázáno, že epidermální expozice se stále vyskytuje v mnoha zemích a to sice během výroby arylaminových barev^[9]. Existují dokonce epidemiologické studie, které jsou zaměřeny na pracovníky, kteří byli vystaveni profesní expozici 4-ABP, a odkazují na vysoký výskyt karcinomu močového měchýře^[12]. Nicméně dnes hlavním zdrojem expozice člověka je inhalace cigaretového kouře^[9], který vytváří značné množství 4-ABP^[6] – uvádí se, že jedna cigareta obsahuje 2-5 ng 4-ABP^[14]. Mohou se vyskytovat i další potencionální expozice, neboť studie prokázala jeho přítomnost v barvách na vlasy^[15] a v jedlých olejích^[9]. Objevují se i tvrzení, že by mohl být přítomen v potravinách obsahujících některé přidané látky^[11].

Před tím než byla prokázána jeho karcinogenita, se používal jako antioxidant v gumárenském průmyslu^[15], jako meziproduct při výrobě barviv a jako činidlo pro detekci sulfátů. Ve většině zemí se už dlouho komerčně nepoužívá^[11], v Evropské unii byla zakázána jeho výroba v roce 1998, v USA se komerčně přestal vyrábět již v roce 1955^[9].

1.2.2 2-aminonaftalen

2-AN je aromatický primární amin^[16] známý svými karcinogenními a mutagenními vlastnostmi^[17].

Důvodem karcinogenity je opět cesta a produkt metabolizace 2-AN. Z tohoto důvodu byl metabolismus 2-AN extenzivně studován. Byl navržen mechanismus iniciace rakoviny močového měchýře: rozhodující reakce je pravděpodobně N-hydroxylace jaterními mikrosomálními enzymy^[18]. Druhá cesta bioaktivace vede přes tvorbu 2-amino-1-naftolu^[9], který je karcinogenní^[19]. Tento fakt je doložen experimentem, z jehož výsledků vyplývá, že pes, který je zvláště citlivý na karcinogenezi 2-AN vylučuje 55 až 70 % 2-AN jako 2-amino-1-naftol, zatímco myš, krysa a králík, kteří jsou méně citliví, vylučují menší množství v této podobě. Studie také ukázala, že koncentrace 2-amino-1-naftolu v moči vzhledem k plazmě byla přibližně 200:1, toto naznačuje, že expozice epitelu močových cest metabolitu byla mnohem vyšší než kterákoliv jiná část těla^[20].

2-AN je látka, která je jednoznačně určena jako původce rakoviny močového měchýře u člověka, opice a psa. Také vytváří rakovinu močového měchýře u křečků, hepatomy a sarkom v místě vpichu u myši. Podle výsledku experimentu se 2-AN jeví jako nekarcinogenní pro králíky. Bohužel tento fakt je podložen pouze jedním experimentem. Není karcinogenní u krys, i když v jednom průzkumu se z 31 testovaných krys u 4 vyvinuly papilomy močového měchýře. Uvádí se, že 2-AN je jen slabě karcinogenní pro potkana^[21].

Byl klasifikován IARC jako karcinogen skupiny 1^[9].

Do organismů může tato chemikálie proniknout přes dýchací ústrojí, kůži^[16] nebo požitím, což jsou v podstatě možné zdroje primární expozice. Přičemž ta expozice může být buď vystavení samostatnému 2-AN a nebo sloučenině, ve které je 2-AN jako kontaminant^[16].

2-AN byl používán průmyslově^[22] – jako meziproduct při výrobě syntetických barviv^[23], jako antioxidant v gumárenství a k výrobě 2-chloronaftylaminu. V roce 1970 byla zakázána jeho výroba v USA a v roce 1998 byla zakázána jeho výroba a používání v Evropské unii^[9]. Je destilačním produktem uhlí a uhelného dehtu^[23], dále je přítomen v tabákovém kouři a v syntetických palivech^[22]. Vyskytuje se jako kontaminant jiných

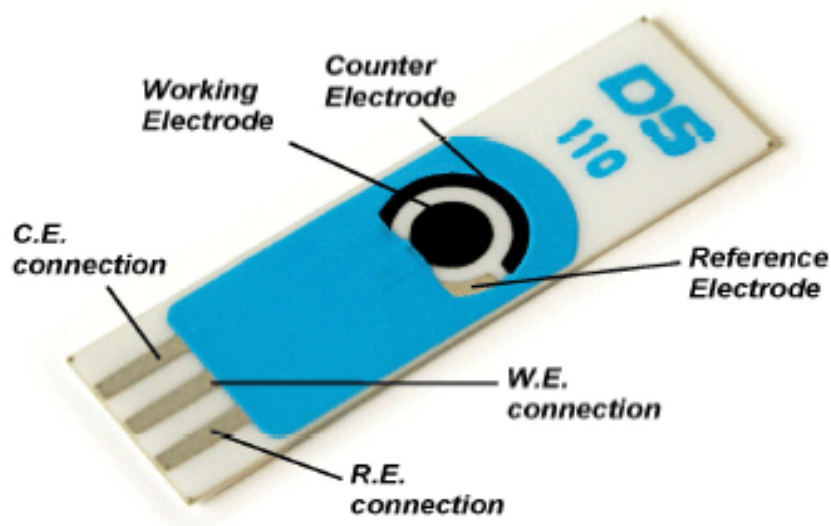
chemických látek, byl nalezen např. ve 2 antioxidantech používaných v gumárenském průmyslu (Nonox S a Agerite Resin)^[24], dále bylo prokázáno, že 2-AN je přítomen v komerčním 1-aminonaftalenu (1-AN)^[25].

1.3 Tištěné elektrody

Tištěné elektrody (Screen-Printed Electrodes, SPE) jsou jako elektrody předmětem zájmu hlavně z ekonomických důvodů^[26], protože pro zhotovení jedné SPE je potřeba malé množství materiálu, což je důvod, proč mohou být SPE vyráběny ve velkém množství a s nízkými náklady^[27]. Fakt, že jsou tyto elektrody levné, ale není jejich jediné pozitivum. K jejich dalším výhodným vlastnostem patří i možnost jejich aplikace na on-site analýzy s nízkým objemem vzorku^[28] a příznivé elektrochemické vlastnosti – rychlý přenos elektronů a dobrá reprodukovatelnost^[29].

SPE se vyrábí nátiskem vodivých inkoustů na izolační substráty^[27] – metodou zvanou sítotisk. Podklady jsou nejčastěji používány keramické nebo plastové (keramické vydrží vyšší teplotu než plastové^[30]). Jejich povrchy jsou z velké části pokryty organickými oleji a jinými pojivy (např. polyesterová pryskyřice, ethylcelulosa, vinylová nebo epoxidová polymerní pojiva a nebo jiné znečišťující látky)^[31]. Při sítotisku musí však být brán zřetel na jeden z nejdůležitějších požadavků, aby materiál použitý v elektrodách byl netoxický a přátelský k životnímu prostředí^[32].

SPE se skládá z pracovní elektrody (nejčastěji uhlíkové, platinové nebo zlaté), ze stříbrné referenční elektrody a pomocné elektrody (opět obvykle uhlíkové, platinové nebo zlaté)^[33]. Jak je patrné, existuje velké množství variant pro skladbu materiálu na SPE. A právě toto složení materiálu, který byl použit při výrobě a tepelné podmínky během vytvrzování tištěné vrstvy^[29], ovlivňují volbu pracovní elektrody pro daný případ^[30].



Obr. 1 Komerční DropSens elektroda

Komerční DropSens elektroda:^[34]

Working Electrode = pracovní elektroda (C/Pt/Au)

Reference Electrode = referentní elektroda (Ag)

Counter Electrode = pomocná elektroda (C/Pt/Au)

W.E. connection, R.E. connection, C.E. connection = elektrický kontakt pracovní, referentní a pomocné elektrody

V této práci byly použity tištěné uhlíkové elektrody (Screen-printed Carbon Electrodes, SPCE). To znamená, že jako pracovní a pomocná elektroda byly zvoleny elektrody uhlíkové a jako referentní elektroda stříbrná. Ačkoliv mají tyto elektrody řadu atraktivních vlastností (široké potenciálové okno, nízké pozadí proudu, chemickou inertnost a nízkou cenu^[30]), jsou necitlivé na některé významné analyty. Důvod znemožněného přístupu analytů na SPCE z roztoku může být dán jejich hydrofobním povrchem^[35].

Vlastnosti elektrody jsou rovněž ovlivněny předúpravou a čištěním elektrody^[29]. Ze studií bylo zjištěno, že přítomnost polymerního pojiva na povrchu elektrody ovlivňuje elektrochemickou reaktivitu SPCE. Polymerní pojivo by totiž mohlo působit jako blokuující vrstva a proto je čištění povrchu SPCE důležité, aby se minimalizoval vliv polymerního pojiva na jeho elektrochemickou reaktivitu^[36]. Vzhledem k povaze

sítotiskové elektrody mechanická manipulace – leštění (jaké se provádí u uhlíkových pastových elektrod, CPE) – nepomůže^[30]. Zato elektrochemické čištění je značně používaný postup pro zlepšení odezvy elektrody^[26] proto bylo navrženo několik metod, jak zlepšit elektrochemické vlastnosti a citlivost uhlíkových elektrod – včetně anodizace, elektrochemického cyklování, namáčení, elektrochemického pokovování^[31] a úpravy SPCE pomocí plazmy^[35]. Zlepšení odezvy je způsobeno odstraněním organických složek inkoustu, čímž se zvýší drsnost povrchu^[31].

Tištěné elektrody byly využívány už před více než 10 lety k detekci DNA a detekci poškozených částí DNA^[27]. V současné době se jednorázové tištěné elektrody běžně používají pro citlivé elektroanalytické snímání^[29]. Komerčně jsou dostupné sítotiskové elektrody např. od firmy DropSens (Španělsko), Zensor (Tchaj-wan), Kanichi (Velká Británie), PalmSens (Nizozemsko), BioSens (Německo)^[28, 29].

2. Experimentální část

2.1 Studované látky

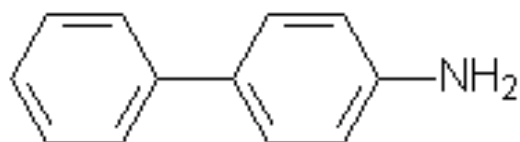
4-aminobifenyl^[9,37]

C.A.S. Name: [1,1'-Biphenyl]-4-amine

C.A.S. registrační číslo: [92-67-1]

Sumární vzorec: C₁₂H₁₁N

Strukturní vzorec:



$M_r = 169,22$

Další názvy: 4-amino-1,1'-bifenyl; 4-aminobifenyl; p-aminobifenyl; 4-aminodifenyl; para-aminodifenyl, bifenyl-4-ylamin; (1,1'-bifenyl-4-yl)amin; 4-bifenylamin; para-bifenylamin; 4-bifenylylamin; 4-fenylanilin; para-fenylanilin; 4-fenylbenzenamin; para-xenylamin; xenylamin

Fyzikální a chemické vlastnosti

fyzikální stav: bezbarvá až světle hnědá krystalická látka

rozpustnost: mírně rozpustná ve studené vodě, snadno rozpustná v horké vodě, acetonu, chloroformu, diethyletheru a ethanolu

bod tání = 53 °C

bod varu = 302 °C

zkratka: 4-ABP

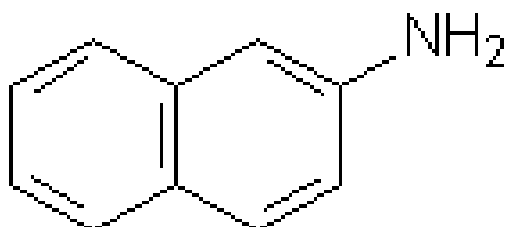
2-aminonaftalen^[9,37]

C.A.S. Name: 2-Naphthalenamine

C.A.S. registrační číslo: [91-59-8]

Sumární vzorec: C₁₀H₉N

Strukturní vzorec:



$M_r = 143,19$

Další názvy: 2-aminonaftalen; β -aminonaftalen; ortho-aminonaftalen; β -naftalenamin; naftalen-2-ylamin; 2-naftylamin; β -naftylamin

Fyzikální a chemické vlastnosti

fyzikální stav: bílá až načervenalá pevná látka

rozpustnost: rozpustný ve vodě, diethyletheru a ethanolu

bod tání: 111-113 °C

bod varu: 306 °C

zkratka: 2-AN

2.2 Použité chemikálie

Studovaná látka:

4-aminobifenyl (97 %, Sigma Aldrich)

2-aminonaftalen (95 %, Sigma Aldrich)

Zásobní roztoky o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byly připraveny rozpuštěním přesně odváženého množství studovaných látek v deionizované vodě. Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány přesným ředěním zásobního roztoku B-R pufrům. Všechny roztoky byly uchovávány v temnu při pokojové teplotě.

Zásobní roztok KCl o koncentraci $3 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byl připraven rozpuštěním daného množství KCl (p.a., Lach-Ner, Neratovice) v deionizované vodě. Tento roztok byl přidáván do měřených roztoků kvůli stabilizaci potenciálu referentní elektrody^[44]. Byl uchováván v chladu.

Roztok $0,001 \text{ M K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ v 1 M KCl byl připraven rozpuštěním daného množství $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (p.a., Lach-Ner, Neratovice) a KCl v deionizované vodě.

Fosfátový pufr o koncentraci $0,05 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ byl připraven rozpuštěním daného množství $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (p.a., LACHEMA, Neratovice) v deionizované vodě. Příslušného pH bylo dosaženo smísením fosfátového pufru a vodného roztoku hydroxidu sodného (p.a., Lach-Ner, Neratovice) o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Brittonovy-Robinsonovy tlumivé roztoky (B-R pufrů) o příslušném pH byly připraveny smísením vodného roztoku hydroxidu sodného o koncentraci $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ s roztokem obsahujícím kyselinu boritou (p.a., LACHEMA, Brno), kyselinu fosforečnou (85%, p.a., Lach-Ner, Neratovice) a kyselinu octovou (99%, p.a., Lach-Ner, Neratovice), každou o koncentraci $0,04 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

K přípravě vodných roztoků byla použita deionizovaná voda (Milli-Q plus System, Millipore, USA).

2.3 Aparatura

2.3.1 Elektrochemické metody

Při voltametrii byl používán Eco-Tribo polarograf s programem PolarPro verze 5 (Polaro-Sensors, Praha) pracující v prostředí WinXP (Microsoft Corp.). Jednotlivá měření byla prováděna v tříelektrodeovém systému s využitím tištěné uhlíkové elektrody (SPCE, DropSens, Španělsko).

SPCE se skládá z uhlíkové pracovní elektrody, stříbrné referenční elektrody a z uhlíkové pomocné elektrody.

2.3.2 Měření pH

Hodnoty pH všech roztoků byly měřeny digitálním měřicím přístrojem Conductivity and pH meter 3510 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou, která byla kalibrována pomocí standardních vodných pufrů.

2.3.3 Další použité přístrojové vybavení

analytické váhy

magnetické míchadlo BIOSAN MS 3000

2.4 Pracovní postupy

2.4.1 Aktivace elektrody

Pro aktivaci uhlíkové tištěné elektrody byl připraven fosfátový pufr o koncentraci $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, jehož pH bylo upraveno roztokem NaOH o koncentraci $0,2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ na $\text{pH} = 7$.

Byla provedena příprava elektrody vkládáním potenciálu $+1200 \text{ mV}$ po dobu 120 s . Roztokem během tohoto kroku nebylo mícháno^[38].

Správná aktivace SPCE byla zkontrolována proměřením roztoku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ pomocí cyklické voltametrie při vkládaném napětí -200 až 900 mV a rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. 10 ml $0,001\text{M}$ roztoku $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ v 1M KCl bylo odpipetováno do polarografické nádoby a byl proveden záznam voltametrických křivek (5 cyklů).

2.4.2 Voltametrické stanovení 4-ABP a 2-AN na SPCE

Při voltametrických měřeních byl postup následující:

Pro základní elektrolyt (ZE) bylo odpipetováno 5 ml deionizované vody a 5 ml B-R pufru. Bylo přidáno $33 \mu\text{l}$ 3M roztoku KCl.

Roztoky studovaných látek byly připraveny smícháním 5 ml zásobního roztoku a 5 ml B-R pufru. Bylo přidáno $33 \mu\text{l}$ 3M roztoku KCl.

Pro měření bylo použito technik CV a DPV s následujícími parametry – pro CV při vkládaném napětí -200 až 900 mV , rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, pro DPV při vkládaném napětí 0 až 900 mV , rychlostí polarizace $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, výškou pulzu 50 mV a šířkou pulzu 100 ms . Elektroda byla čištěna metodou CV při vkládaném napětí 900 až -500 mV , rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Voltametrické křivky byly změřeny pro CV alespoň pětkrát, pro DPV alespoň třikrát.

Před každou výměnou roztoku byla SPCE opláchnuta deionizovanou vodou.

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty.

3. Výsledky a diskuze

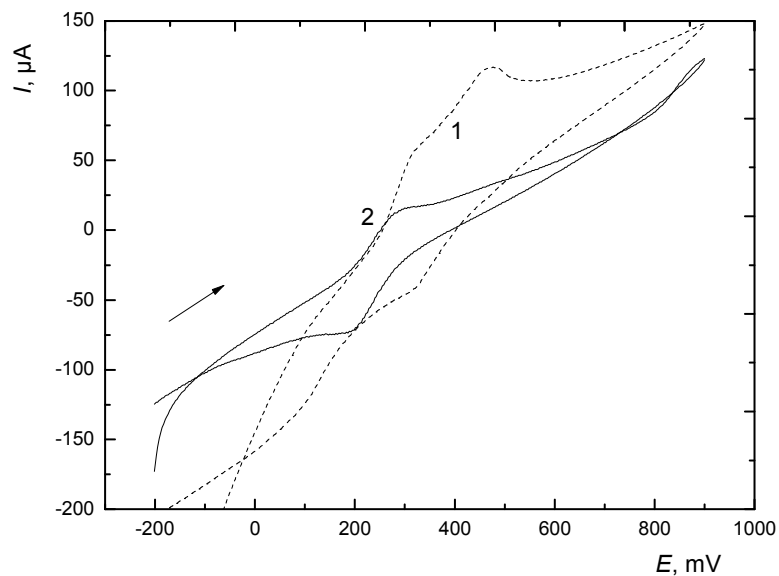
3.1 Aktivace elektrody

Po aktivaci SPCE fosfátovým pufrům byla elektroda otestována redoxním systémem hexakynoželeznanu draselného. Bylo proměřeno vždy 5 cyklických voltamogramů roztoku 0,001M $K_4Fe(CN)_6$ v 1M KCl.

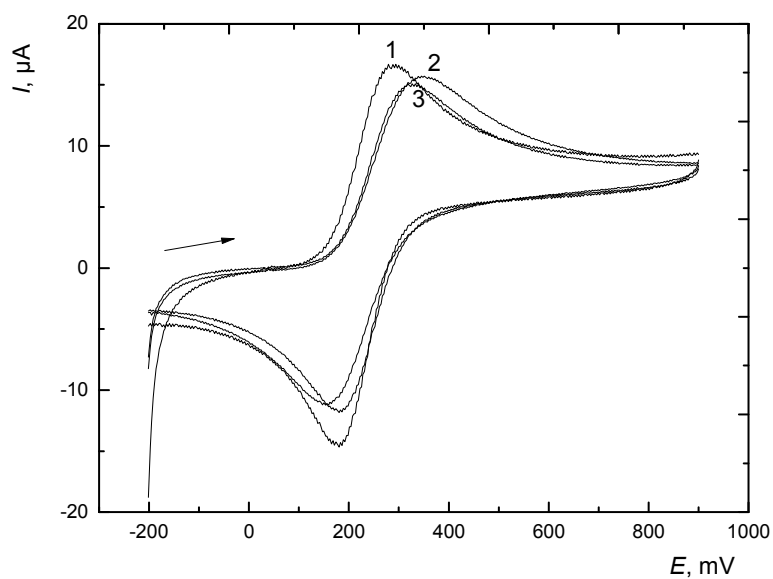
Cyklický voltamogram je znázorněn na obr. 2, kde cyklus 1 proběhl před aktivací elektrody a cyklus 2 po aktivaci elektrody. Z obrázku je patrné, v čem spočívá výhoda aktivace SPCE. Křivka zaznamenaná před aktivací má komplikovanější průběh, protože má atypický tvar s několika píky. Zatímco cyklus 2, který představuje redoxní systém $K_4Fe(CN)_6$ po aktivaci SPCE má průběh odpovídající charakteru analytu, se dvěma zřetelnými píky – tzn. jedním anodickým a jedním katodickým. Po aktivaci došlo ke zvýšení reverzibility reakce. Pokud by se na cyklických voltamogramech systému $K_4Fe(CN)_6$ objevily píky zcela odlišných atypických tvarů (jako je např. cyklus 1 na obr. 2) nebo by se neobjevily píky žádné, elektroda by byla špatně aktivována (popř. by byla zničena).

Na zaktivované elektrodě byl dále proveden záznam 5 cyklů redoxního systému hexakynoželeznanu draselného. Hodnoty směrodatných odchylek – pro anodický pík mající hodnotu 1,3 % a pro katodický pík 1,2 % - dokazují, že 5 naměřených cyklů je opakovatelných.

Dále byl zjišťován vliv aktivace i na ostatní SPCE použité v této práci – zda-li má stejný vliv jako na předchozí elektrodu, popř. jak velké odchýlení může být pozorováno. Jako hlavní studovaná kritéria byly vybrány výšky píků a ty následně porovnány. Pro ilustraci jsou na obr. 3 zobrazeny 3 cykly redoxního systému $K_4Fe(CN)_6$. Výsledky tohoto srovnání jsou následující: pro anodický pík: $(18,3 \pm 3,6) \mu A$ ($s_r = 22 \%$, $n = 7$), pro katodický pík: $(20,2 \pm 4,7) \mu A$ ($s_r = 26 \%$, $n = 7$). Je patrné, že se jednotlivé cykly jednotlivých elektrod liší výškami svých píků, z čehož se dá usuzovat, že aktivace neprobíhá u každé elektrody úplně stejně.



Obr. 2 Cyklický voltamogram redoxního systému hexokyanoželeznatanu draselného před aktivací elektrody (1) a po aktivaci elektrody (2) měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Průběh cyklu je naznačen šipkou.



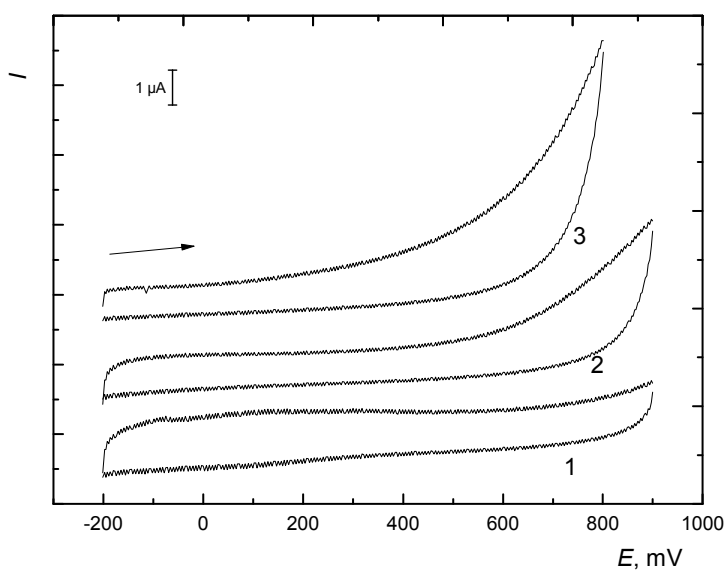
Obr. 3 Cyklický voltamogram redoxního systému hexakcyanoželeznatanu draselného po aktivaci tří různých SPCE měřený metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Průběh cyklu je naznačen šipkou.

3.2 Vlastnosti SPCE

3.2.1 Vliv pH na šířku potenciálového okna základního elektrolytu

Metodou cyklické voltametrie byl studován vliv pH na šířku potenciálového okna na SPCE o $\text{pH} = 2, 7$ a 12 , v rozmezí vkládaného potenciálu -200 až 900 mV - tedy pouze v oxidační oblasti, rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$.

Na obr. 4 jsou znázorněny cyklické voltamogramy ZE o $\text{pH} = 2, 7$ a 12 , ze kterého je patrné, že s rostoucí kyselostí základního elektrolytu se potenciálový rozsah zvyšuje. Potenciálové okno končí v oxidační oblasti u následujících potenciálů: u ZE $\text{pH} = 2$ přibližně 850 mV, u ZE $\text{pH} = 7$ přibližně 800 mV a u ZE $\text{pH} = 12$ přibližně 620 mV.



Obr. 4 Cyklický voltamogram základního elektrolytu B-R pufru o hodnotě $\text{pH} = 2$ (1), $\text{pH} = 7$ (2) a $\text{pH} = 12$ (3) měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Průběh cyklu je naznačen šipkou.

3.2.2 Cyklická voltametrie

Metodou cyklické voltametrie byl studován vliv pH na voltametrické chování 2-AN a 4-ABP na SPCE v B-R pufru o pH = 2, 7, 12, v rozmezí vkládaného potenciálu -200 až 900 mV, rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Koncentrace studované látky byla $5\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Katodické píky nebyly vyvinuty, jak je u aromatických aminů obvyklé, proto byly dále zkoumány pouze píky anodické.

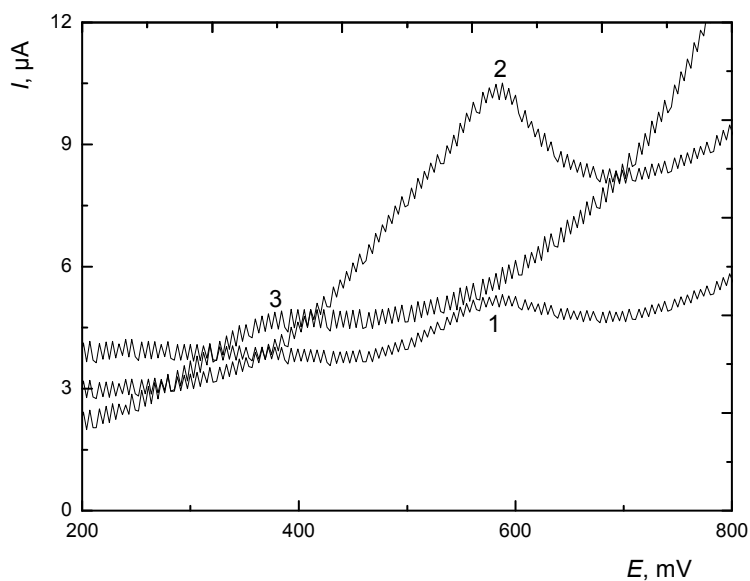
Nejvyšší hodnotu potenciálu píku dosahuje 2-AN při pH = 2 (přibližně 590 mV). S rostoucí bazicitou se potenciál píku snižuje. Pro pH = 7 má hodnotu přibližně 580 mV a pro pH = 12 má hodnotu přibližně 360 mV. 2-AN vytváří při všech hodnotách pH pouze jeden pík. Závislost proudu píku na potenciálu píku je znázorněna na obr. 5.

Nejvyšší hodnotu potenciálu píku dosahuje 4-ABP při pH = 2 (přibližně 660 mV) a s rostoucí bazicitou klesají (při pH = 7 přibližně 460 mV a při pH = 12 přibližně 380 mV). 4-ABP vytváří při pH = 2 a pH = 12 pouze jeden pík, při pH = 7 jsou znatelné píky dva. Tyto dva píky jsou charakteristické pro tuto hodnotu pH a pro tuto analyzovanou látku a objevily se později i při měření metodou DPV. Dále byl statisticky zpracováván pouze první pík. Závislost proudu píku na potenciálu píku je znázorněna na obr. 6.

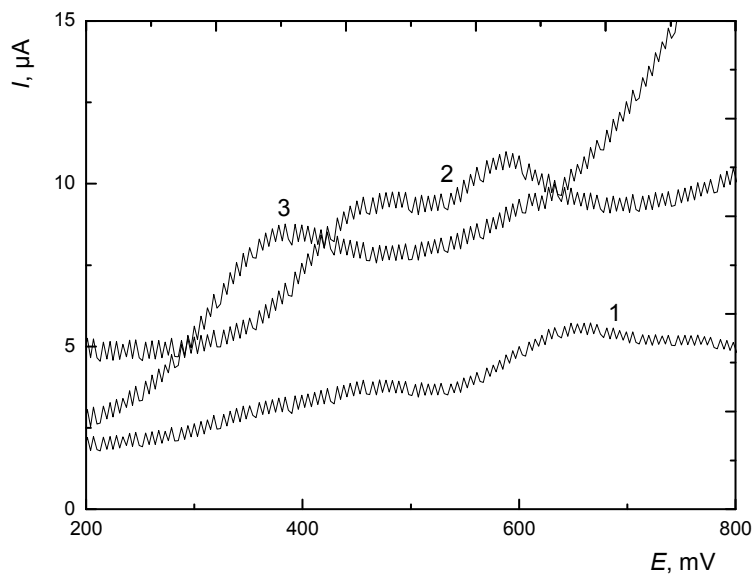
Metodou CV byla studována pasivace elektrody – chování elektrody při opakovaném měření v roztocích 2-AN a 4-ABP při pH = 2, 7, 12. Bylo zaznamenáno 15 cyklů pro roztok 2-AN o koncentraci $5\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ při pH = 7 a 20 cyklů pro roztok 4-ABP o téže koncentraci taktéž při pH = 7. Pro ostatní hodnoty pH bylo zaznamenáno cyklů 5. Mezi měřeními byl roztok promícháván cca 5-10 vteřin. Výsledné křivky jsou znázorněny na obr. 7 a obr. 8. S rostoucím počtem měření na SPCE v roztoku 2-AN při pH = 7 výška vlny klesá přibližně o 40 %, jak je zobrazeno na obr. 7. Z tohoto je patrné, že se SPCE pasivuje stanovovanou látkou – na povrchu elektrody se vytváří vrstvička sloučeniny, která zabraňuje přístupu analyzované látky k povrchu elektrody. Totéž platilo i u ostatních hodnot pH pro obě látky – s rostoucím počtem měření výška vlny klesala, tudíž se elektroda také pasivovala stanovovanou látkou. Zatímco u 4-ABP při pH = 7 je situace trochu odlišná. U prvního cyklu se

objevily 2 píky a s rostoucím počtem měření dochází ke splývání těchto dvou píků. U desátého cyklu už se objevuje pík pouze jeden. Z porovnání části série před splýnutím píků a po tomto splýnutí vyplývá, že s rostoucím počtem měření signál rovněž klesá – před splýnutím o 6 % a po splýnutí o 12 %. SPCE se pasivuje stanovovanou látkou.

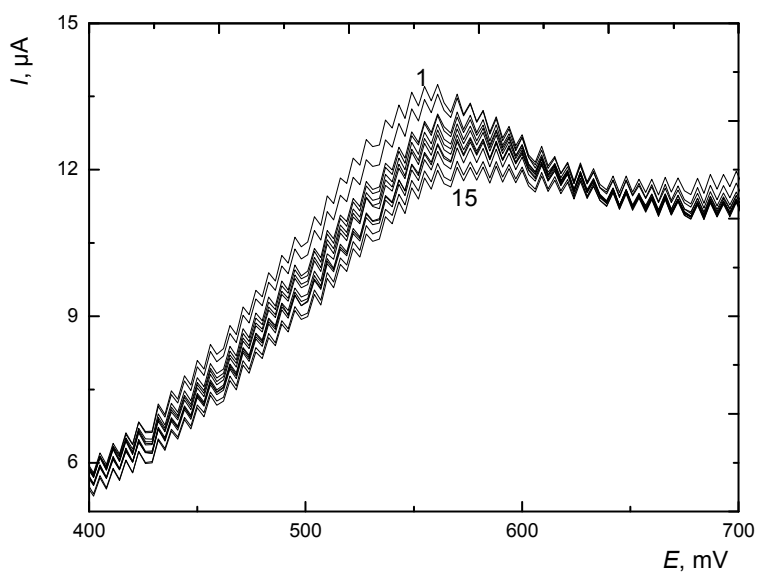
Při těchto hodnotách pH byla také studována možnost čištění elektrody SPCE opakovanou cyklickou polarizací elektrody v potenciálovém rozsahu 900 až -500 mV, rychlostí polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Hlavním kritériem byly výšky píků látek 2-AN a 4-ABP – porovnávaly se jejich hodnoty před čištěním a po čištění. Bylo vždy proměřeno 5 cyklů dané látky, elektroda byla vyčištěna a poté bylo proměřeno dalších 5 cyklů této látky. Z výsledků tohoto měření bylo usouzeno, že tento postup čištění je vhodný, protože se elektroda po tomto kroku vrátila do původního stavu. Toto platilo bez ohledu na hodnotu pH, tudíž stejného výsledku bylo docíleno jak pro hodnotu pH = 7 tak i pro hodnoty pH = 2 a 12. Pro ilustraci jsou uvedeny grafy na obr. 9, které prezentují tento čistící postup pro dvojici látek 4-ABP a 2-AN při pH = 12. Tento postup čištění elektrody byl dále použit i u proměřování kalibračních a pH závislostí.



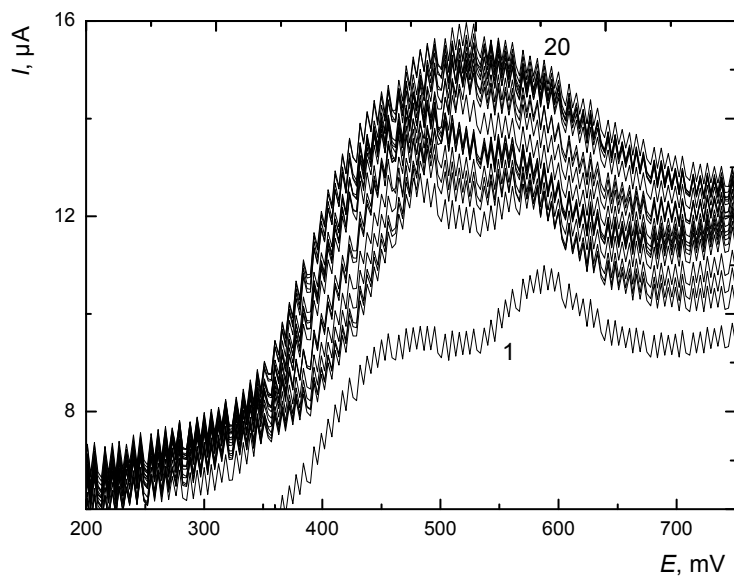
Obr. 5 Cyklické voltamogramy 2-AN o hodnotě pH = 2 (1), pH = 7 (2) a pH = 12 (3) měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Zobrazena pouze anodická část cyklů.



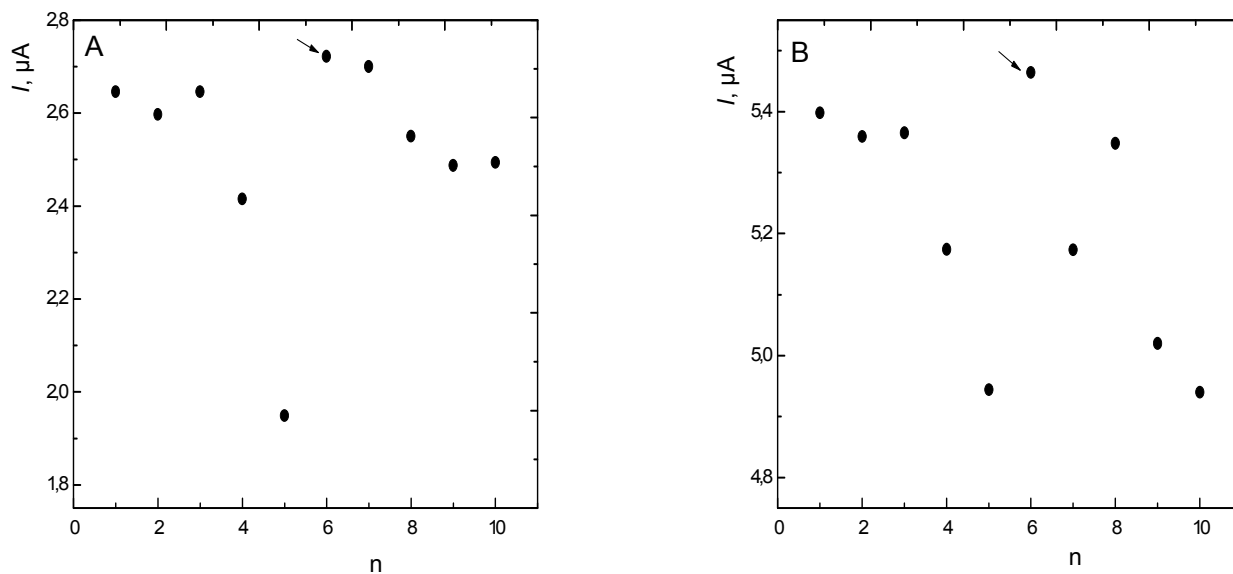
Obr. 6 Cyklické voltamogramy 4-ABP o hodnotě $\text{pH} = 2$ (1), $\text{pH} = 7$ (2) a $\text{pH} = 12$ (3) měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Zobrazena pouze anodická část cyklů.



Obr. 7 Cyklické voltamogramy 2-AN měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. 15 opakovaných skenů. Zobrazena pouze anodická část cyklů.



Obr. 8 Cyklické voltamogramy 4-ABP měřené na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. 20 opakovaných skenů. Zobrazena pouze anodická část cyklů.



Obr. 9 Grafy zjištěných závislostí proudu píku na počtu měření pro 2-AN (A) a 4-ABP (B) $\text{pH} = 12$ měřeno na SPCE metodou CV, rychlost polarizace $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Šipkou je označen počátek série měření po čištění elektrody.

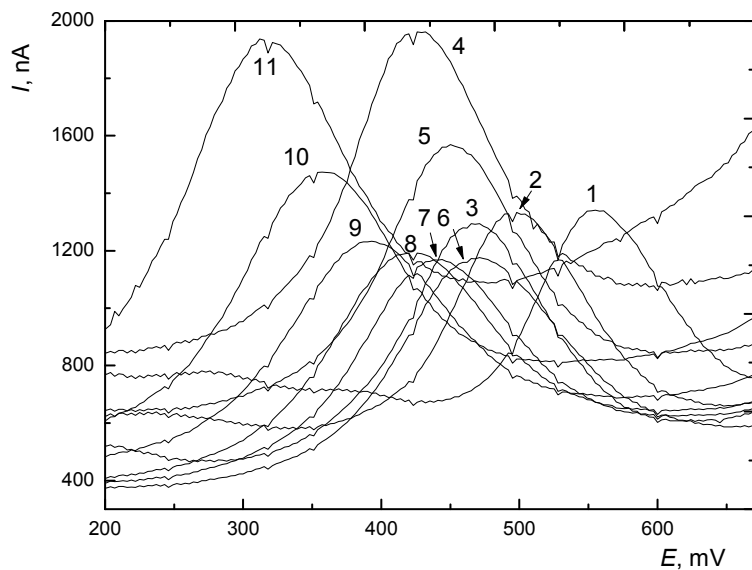
3.3 DP voltametrické stanovení 2-AN a 4-ABP na SPCE

3.3.1 Vliv pH

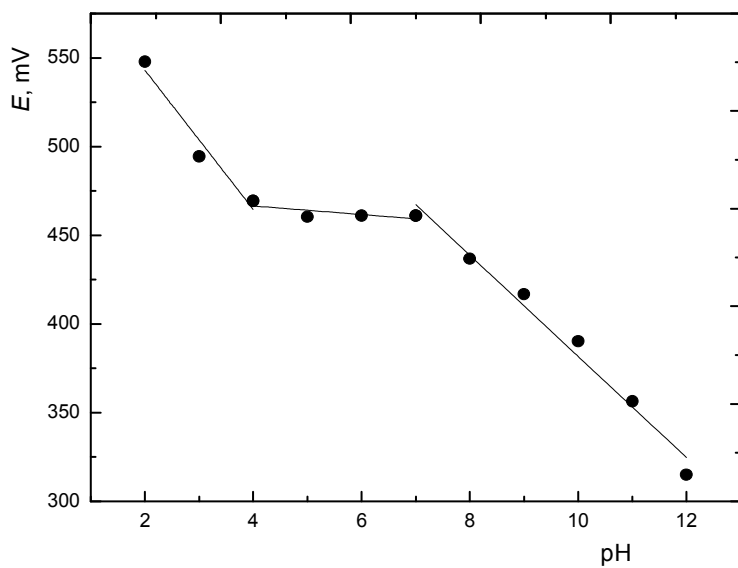
Metodou diferenční pulzní voltametrie byl studován vliv pH na voltametrické chování 2-AN a 4-ABP na SPCE v B-R pufru v rozmezí pH = 2 až 12, při vkládaném potenciálu 0 až 900 mV, rychlostí polarizace $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, výškou pulzu 50 mV a šířkou pulzu 100 ms. Koncentrace studované látky byla $5\cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Na obr. 10 jsou znázorněny voltamogramy 2-AN v B-R pufru s hodnotami pH = 2 až 12. Zjištěné hodnoty potenciálu píku (E_p) a proudu píku (I_p) na pH jsou graficky znázorněny na obr. 11 a obr. 12. Parametry závislosti potenciálu píku na pH roztoku – tři lineárních závislostí jsou následující: pro pH = 2 až 4: $E = -39,2\cdot\text{pH} + 621,4$; pro pH = 4 až 7: $E = -2,4\cdot\text{pH} + 476,2$ a pro pH = 7 až 12: $E = -28,5\cdot\text{pH} + 666,8$. Ze závislosti potenciálu píku na pH je patrné, že potenciál píku klesá s rostoucí hodnotou pH. Nejlépe vyvinuté píky 2-AN byly získány v prostředí B-R pufru při pH = 12. Pro měření koncentračních závislostí 2-AN bylo zvoleno právě toto prostředí.

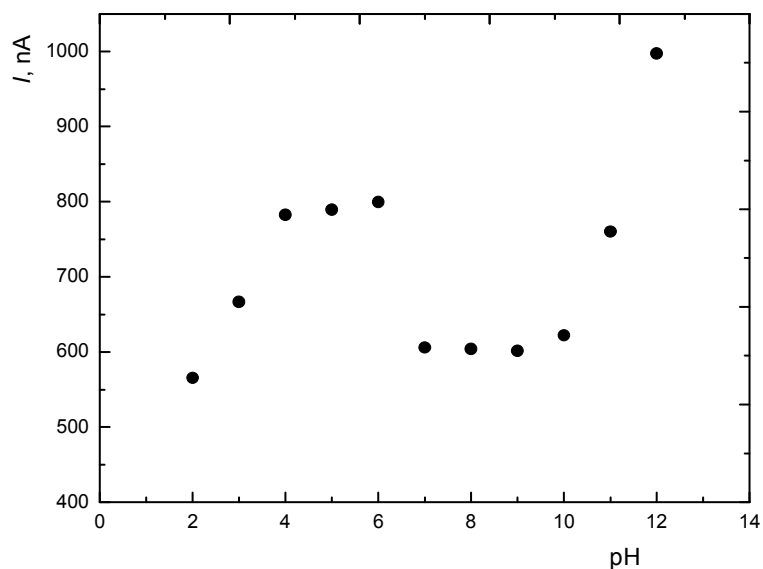
Na obr. 13 jsou znázorněny voltamogramy 4-ABP v B-R pufru s hodnotami pH = 2 až 12. Zjištěné hodnoty potenciálu píku a proudu píku na pH pro 4-ABP jsou graficky znázorněny na obr. 14 a obr. 15. Parametry závislosti potenciálu píku na pH roztoku – dvou lineárních závislostí jsou následující: pro pH = 2 až 7: $E = -11,3\cdot\text{pH} + 568,7$ a pro pH = 7 až 12: $E = -47,8\cdot\text{pH} + 830,6$. Ze závislosti potenciálu píku na pH je patrné, že potenciál píku klesá s rostoucí hodnotou pH. Nejlépe vyvinuté píky 4-ABP byly získány v prostředí B-R pufru při pH = 12. Pro měření koncentračních závislostí 4-ABP bylo zvoleno právě toto prostředí.



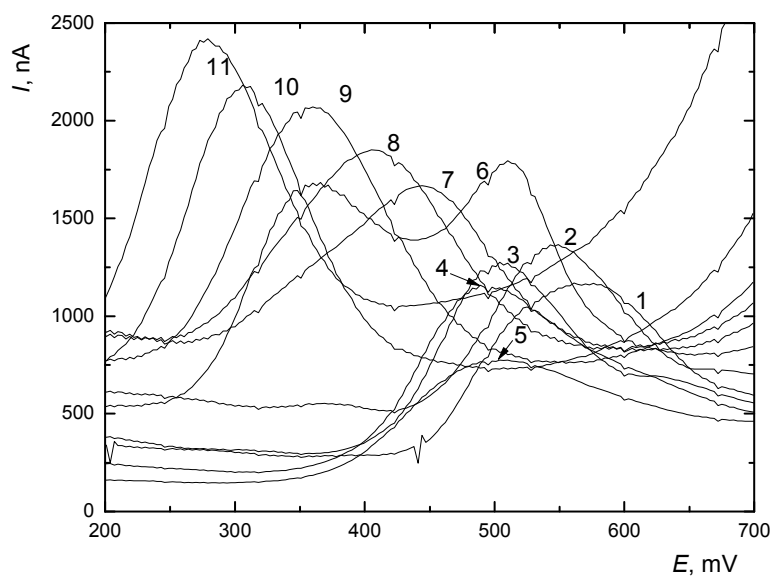
Obr. 10 Vybrané DP voltamogramy 2-AN o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 (1), 3 (2), 4 (3), 5 (4), 6 (5), 7 (6), 8 (7), 9 (8), 10 (9), 11 (10) a 12 (11), rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.



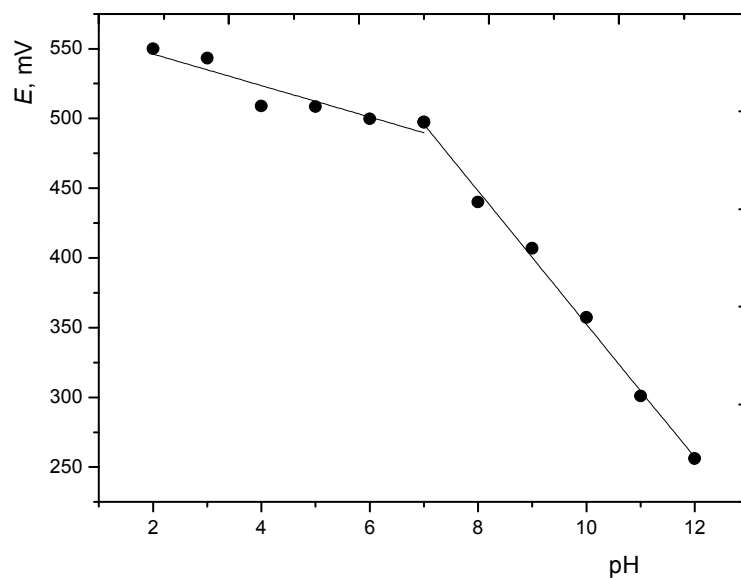
Obr. 11 Závislost potenciálu piku 2-AN o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na pH na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 až 12, rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.



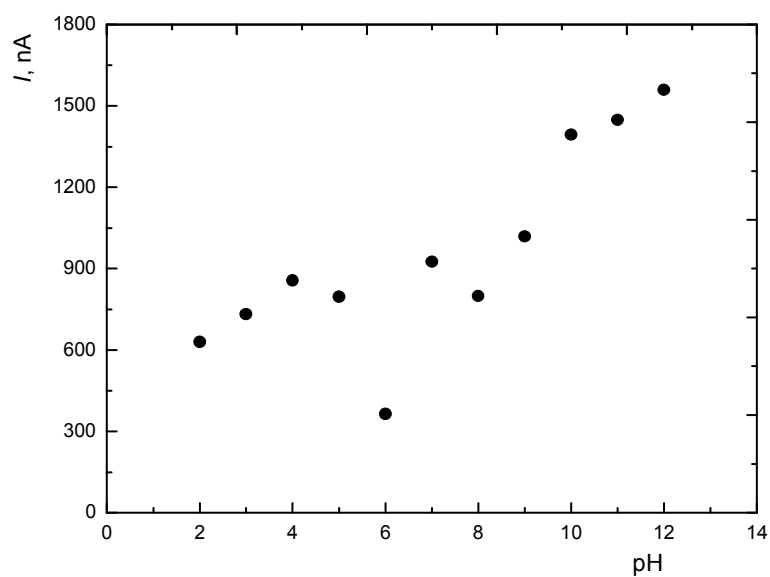
Obr. 12 Závislost proudu piku 2-AN o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na pH na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 až 12, rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.



Obr. 13 Vybrané DP voltamogramy 4-ABP o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 (1), 3 (2), 4 (3), 5 (4), 6 (5), 7 (6), 8 (7), 9 (8), 10 (9), 11 (10) a 12 (11), rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.



Obr. 14 Závislost potenciálu píku 4-ABP o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na pH na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 až 12, rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.



Obr. 15 Závislost proudu píku 4-ABP o koncentraci $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ na pH na SPCE v prostředí B-R pufru o pH = 2 až 12, rychlost polarizace $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms.

3.3.2 Koncentrační závislost

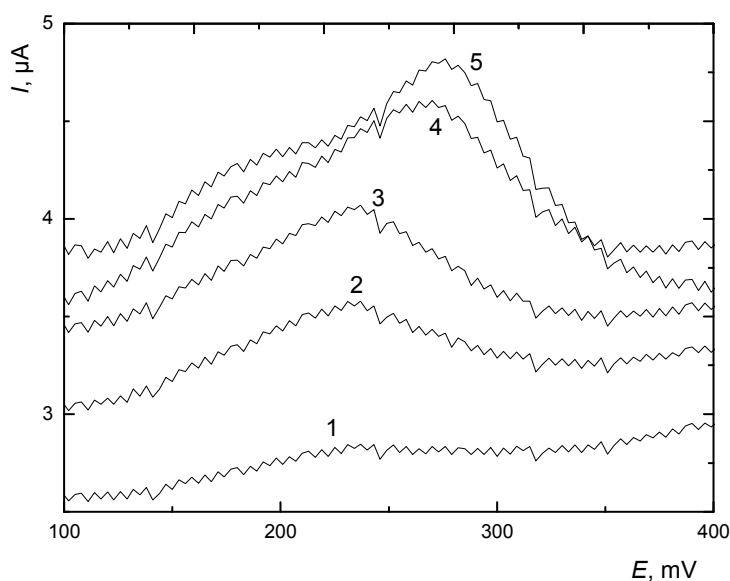
Závislost proudu píku I_p na koncentraci 2-AN a 4-ABP byla proměřena metodou DPV v koncentračním rozmezí $8 \cdot 10^{-5}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol·dm⁻³ v prostředí B-R pufru pH = 12, v rozmezí vkládaného potenciálu 0 až 900 mV, rychlostí polarizace 20 mV·s⁻¹, výškou pulzu 50 mV a šířkou pulzu 100 ms.

Na obr. 16 a na obr. 17 jsou uvedeny voltamogramy 2-AN a 4-ABP pro koncentrační rozmezí $1 \cdot 10^{-5}$ až $8 \cdot 10^{-5}$ mol·dm⁻³ v prostředí B-R pufru pH = 12.

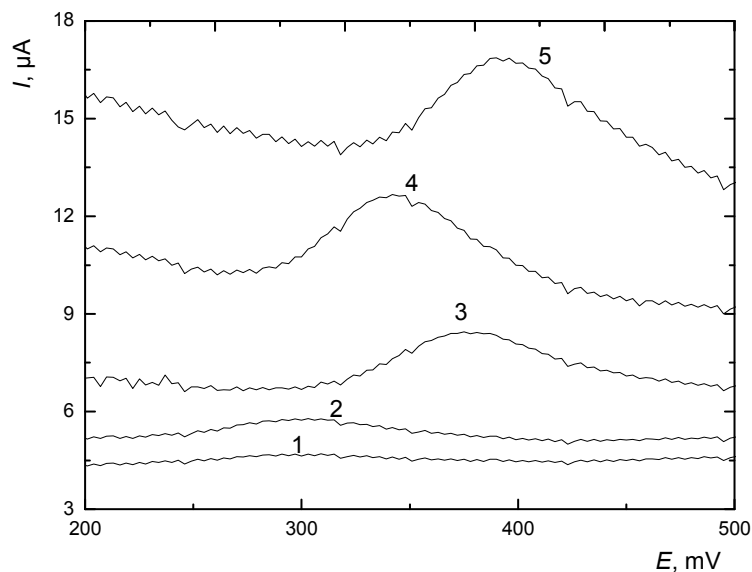
Na obr. 18 a na obr. 19 jsou znázorněny kalibrační závislosti studovaných látek v koncentračním rozmezí $8 \cdot 10^{-5}$ až $1 \cdot 10^{-6}$ mol·dm⁻³, přičemž jednotlivé body prezentují průměrnou hodnotu alespoň tří měření.

Parametry kalibračních závislostí jsou uvedeny v tabulce 1.

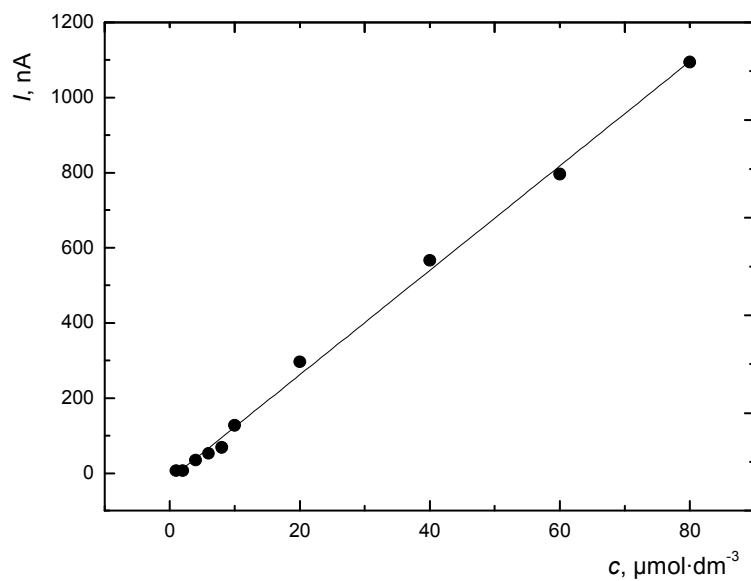
Z výsledků měření je patrné, že jsou kalibrační závislosti lineární. Avšak bylo dosaženo poměrně vysoké meze detekce, což je způsobeno značným šumem objevujícím se při měření.



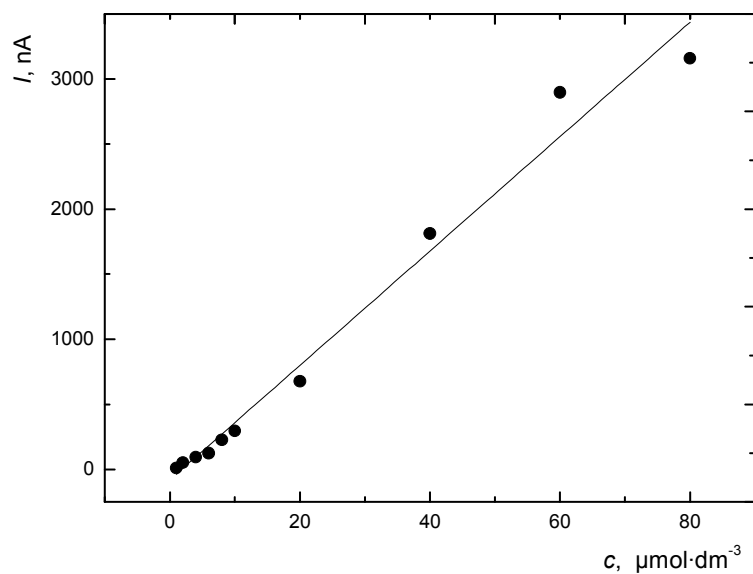
Obr. 16 DP voltamogramy 2-AN v prostředí B-R pufru pH = 12 na SPCE, rychlost polarizace 20 mV·s⁻¹, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms. Koncentrace 2-AN $1 \cdot 10^{-5}$ (1), $2 \cdot 10^{-5}$ (2), $4 \cdot 10^{-5}$ (3), $6 \cdot 10^{-5}$ (4), $8 \cdot 10^{-5}$ (5) mol·dm⁻³.



Obr. 17 DP voltamogramy 4-ABP v prostředí B-R pufru $pH = 12$ na SPCE, rychlost polarizace $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms . Koncentrace 4-ABP $1\cdot 10^{-5}$ (1), $2\cdot 10^{-5}$ (2), $4\cdot 10^{-5}$ (3), $6\cdot 10^{-5}$ (4), $8\cdot 10^{-5}$ (5) $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.



Obr. 18 Závislost proudu píku na koncentraci 2-AN v prostředí B-R pufru $pH = 12$ na SPCE, rychlost polarizace $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms . Koncentrační rozmezí ($1\cdot 10^{-6} - 8\cdot 10^{-5}$) $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.



Obr. 19 Závislost proudu píku na koncentraci 4-ABP v prostředí B-R pufru $\text{pH} = 12$ na SPCE, rychlost polarizace $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, výška pulzu 50 mV a šířka pulzu 100 ms . Koncentrační rozmezí $(1\cdot 10^{-6} - 8\cdot 10^{-5}) \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

Tab. 1 Parametry kalibračních závislostí 2-AN a 4-ABP měřených pomocí metody DPV na SPCE v prostředí B-R pufru $\text{pH} = 12$.

Látka	c ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)	směrnice ($\text{mA}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{dm}^3$)	úsek (nA)	korelační koeficient	L_D ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$)
2-AN	$(80-1)\cdot 10^{-6}$	14,0	-16,4	0,9974	$1,6\cdot 10^{-5}$
4-ABP	$(80-1)\cdot 10^{-6}$	44,0	-79,8	0,9822	$7,3\cdot 10^{-6}$

4. Závěr

Cílem této práce bylo prostudování elektrochemických vlastností uhlíkových tištěných elektrod. Studovanými látkami byly látky karcinogenní 4-ABP a 2-AN. Všechna měření byla provedena metodou cyklické voltametrie a metodou diferenční pulzní voltametrie s využitím SPCE.

Před samotným měřením byla ověřena možnost aktivace elektrody fosfátovým pufrem vkládáním kladného potenciálu. Vzhledem k lepší reverzibilitě probíhajícího děje v redoxním systému hexakvanoželeznanu draselného (a s tím spojená lepší schopnost elektrody poskytovat odezvu) byla po každé další výměně elektrody provedena její aktivace.

Součástí měření bylo dále zkoumání vlivu čištění elektrody (cyklování v základním elektrolytu) na reprodukovatelnost a stálost signálu. Toto měření se provádělo metodou cyklické voltametrie a hlavním cílem bylo zjištění, zda-li je tento postup čištění pro SPCE vhodný. Bylo zjištěno, že tento způsob čištění je pro elektrodu vhodný.

Následně se zjišťovalo, co se se signálem děje, když není SPCE čištěna a cyklů je provedeno více než pět. Signál se s rostoucím počtem měření snižoval. Z tohoto zjištění se dá soudit, že se elektroda pasivuje a její čištění je nutné.

Metodou DPV byla nejprve proměřena pH závislost a následně i kalibrační závislost. Obě látky byly prozkoumány ve stejném koncentračním rozmezí, přičemž obě poskytly odlišné meze detekce – pro 2-AN je rovna $16 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, pro 4-ABP je rovna $7,3 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Je patrné, že tyto hodnoty jsou poměrně vysoké, což je způsobeno šumem, který se při měření objevoval.

Literatura

1. J. Barek, J. Cvačka, A. Muck, V. Quaiserová, J. Zima: Polarographic and Voltammetric Determination of Carcinogenic Nitro and Amino Derivatives of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Electroanalysis* 13, 799-803 (2001).
2. D. Shin, D. A. Tryk, A. Fujishima, A. Muck Jr., G. Chen, J. Wang: Microchip capillary electrophoresis with a boron-doped diamond electrochemical detector for analysis of aromatic amines. *Electrophoresis* 25, 3017-3023 (2004).
3. K. W. Sigvardson, J. M. Kennish, J. W. Birks: Peroxyoxalate Chemiluminescence Detection of Polycyclic Aromatic Amines in Liquid Chromatography. *Analytical Chemistry* 56, 1096-1102 (1984).
4. B. A. Tomkins, C.-h. Ho: Determination of Polycyclic Aromatic Amines in Natural and Synthetic Crudes. *Analytical Chemistry* 54, 91-96 (1982).
5. A. Ferancová, E. Korgová, J. Labuda, J. Zima, J. Barek: Cyclodextrin Modified Carbon Paste Based Electrodes as Sensors for the Determination of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Amines. *Electroanalysis* 14, 1668-1673 (2002).
6. Z. Feng, W. Hu, W. N. Rom, F. A. Bealand: 4-Aminobiphenyl is a major etiological agent of human bladder cancer: evidence from its DNA binding spectrum in human p53 gene. *Carcinogenesis* 23, 1721-1727 (2002).
7. F. Saletta, G. Matullo, M. Manuguerra, S. Arena, A. Bardelli, P. Vineis: Exposure to the Tobacco Smoke Constituent 4-Aminobiphenyl Induces Chromosomal Instability in Human Cancer Cells. *Cancer Research* 67, 7088-7094 (2007).
8. R. Stabbert, K.-H. Schäfer, Ch. Biefel, K. Rustemeier: Analysis of aromatic amines in cigarette smoke. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 17, 2125-2132 (2003).
9. International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans. Volume 99, World Health Organization, Lyon, 2010.
10. L.-Y. Wang, Ch.-J. Chen, Y.-J. Zhang, W.-Y. Tsai, P.-H. Lee, M. A. Feitelson, Ch.-S. Lee, R. M. Santella: 4-Aminobiphenyl DNA Damage in Liver Tissue of Hepatocellular Carcinoma Patients and Controls. *American Journal of Epidemiology* 147, 315-323 (1998).
11. Y. Tsuneoka, T. P. Dalton, M. L. Miller, C. D. Clay, H. G. Shertzer, G. Talaska, M. Medvedovic, D. W. Nebert: 4-Aminobiphenyl-Induced Liver and Urinary Bladder DNA Adduct Formation in Cyp1a2(-/-) and Cyp1a2(+/-) Mice. *Journal*

- of the National Cancer Institute 95, 1227-1237 (2003).
12. International Agency for Research on Cancer (IARC): IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans. Volume 1, World Health Organization, Lyon, 1972.
 13. J.N. Chen, H.X. Yu, L. Ying, et al: Ecotoxicological evaluation of 4-aminobiphenyl using a test battery. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 58, 104-109 (2004).
 14. P. S. Makena, K.-T. Chung: Evidence that 4-Aminobiphenyl, Benzidine and Benzidine Congeners Produce Genotoxicity Through Reactive Oxygen Species. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 48, 404-413 (2007).
 15. R. J. Turesky, J. P. Freeman, R. D. Holland, D. M. Nestouck, D. W. Miller, D. L. Ratnasinghe, F. F. Kadlubar: Identification of Aminobiphenyl Derivatives in Commercial Hair Dyes. *Chemical Research in Toxicology* 16, 1162-1173 (2003).
 16. Y. Liu, M. Chen, G. Bian, J. Liu, L. Song: Spectroscopic Investigation of the Interaction of the toxicant, 2-Naphthylamine, with Bovine Serum Albumin. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology* 25, 362-368 (2011).
 17. M. L. Goniewicz, J. Czogala: Exposure of Active and Passive Smokers to Aromatic Amines Present in Tobacco Smoke. *Toxicology Mechanisms and Methods* 15, 235-245 (2005).
 18. B. S. Bock-Hennig, D. Ullrich, K. W. Bock: Activating and inactivating reactions controlling 2-naphthylamine mutagenity. *Archives of Toxicology* 50, 259-266 (1982).
 19. G. M. Bonser, L. Bradshaw, D. B. Clayson, J. W. Jull: A further study of the carcinogenic properties of ortho hydroxy-amines and related compounds by bladder implantation in the mouse. *British Journal of Cancer* 10, 539-546 (1956).
 20. G. M. Bonser, D. B. Clayson, J. W. Jull, L. N. Pyrah: The carcinogenic properties of 2-amino-1-naphthol hydrochloride and its parent amine 2-naphthylamine. *British Journal of Cancer* 6, 412-424 (1952).
 21. R. M. Hicks, R. Wright, J. ST J. Wakefield: The induction of rat bladder cancer by 2-naphthylamine. *British Journal of Cancer* 46, 646-661 (1982).
 22. G. J. Hammons, F. P. Guengerich, C. C. Weis, F. A. Beland, F. F. Kadlubar: Metabolic Oxidation of Carcinogenic Arylamines by Rat, Dog, and Human Hepatic Microsomes and by Purified Flavin-containing and Cytochrome P-450 Monooxygenases. *The Journal of Cancer Research* 45, 3578-3585 (1985).

23. C. D. Axtell, E. M. Ward, G. P. McCabe, P. A. Schulte, F. B. Stern, L. T. Glickman: Underlying and Multiple Cause Mortality in a Cohort of Workers Exposed to Aromatic Amines. *American Journal of Industrial Medicine* 34, 506-511 (1998).
24. C. A. Veys: Bladder tumours in rubber workers: a factory study 1946-1995. *Occupational Medicine – Oxford* 54, 322-329 (2004).
25. I. F. H. Purchase, A. E. Kalinowski, J. Ishmael, J. Wilson, C. W. Gore, I. S. Chart: Lifetime carcinogenicity study of 1-naphthylamine and 2-naphthylamine in dogs. *British Journal of Cancer* 44, 892-901 (1981).
26. W.-Y. Su, S.-M. Wang, S.-H. Cheng: Electrochemically pretreated screen printed carbon electrodes for the simultaneous determination of aminophenol isomers. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 651, 166-172 (2011).
27. R. Ren, C. Leng, S. Zhang: A chronocoulometric DNA sensor based on screen-printed electrode doped with ionic liquid and polyaniline nanotubes. *Biosensors and Bioelectronics* 25, 2089-2094 (2010).
28. J. Kumar, S. F. D'Souza: Microbial biosensor for detection of methyl parathion using screen printed carbon electrode and cyclic voltammetry. *Biosensors and Bioelectronics* 26, 4289-4293 (2011).
29. R. O. Kadara, N. Jenkinson, C. E. Banks: Characterisation of commercially available electrochemical sensing platforms. *Sensors and Actuators B* 138, 556-562 (2009).
30. P. Fanjul-Bolado, D. Hernández-Santos, P. J. Lamas-Ardisana, A. Martín-Pernía, A. Costa-García. Electrochemical characterization of screen-printed and conventional carbon paste electrodes. *Electrochimica Acta* 53, 3635-3642 (2008).
31. Y.-H. Chang, Ch.-L. Hsu, Ch.-J. Yuan, S.-F. Tang, H.-J. Chiang, H.-D. Jang, K.-S. Chang: Improvement of the inter-electrode reproducibility of screen-printed carbon electrodes by oxygen plasma etching and an image color level method for quality control. *Material Science and Engineering C* 31, 1265-1270 (2011).
32. J. Barek, J. Fischer, T. Navrátil, K. Pecková, B. Yosypchuk, J. Zima: Nontraditional Electrode Materials in Environmental Analysis of Biologically Active Organic Compounds. *Electroanalysis* 19, 2003-2014 (2007).
33. K. Murugappan, J. Lee, D. S. Silvester: Comparative study of screen printed electrodes for ammonia gas sensing in ionic liquids. *Electrochemistry Communications* 13, 1435-1438 (2011).
34. www.dropsens.com staženo 2. 8. 2012.

35. S.C. Wang, K.S. Chang, C.J. Yuan: Enhancement of electrochemical properties of screen-printed carbon electrodes by oxygen plasma treatment. *Electrochimica Acta* 54, 4937-4943 (2009).
36. F. Ghamouss, E. Luais, C. Thobil-Gautier, P.-Y. Tessier, M. Boujtita: Argon plasma treatment to enhance the electrochemical reactivity of screen-printed carbon surfaces. *Electrochimica Acta* 54, 3026-3032 (2009).
37. www.gestis-en.itrust.de staženo 2. 8. 2012.
38. D. D. Gornall, S. D. Collyer, S. P. J. Higson: Investigations into the use of screen-printed carbon electrodes as templates for electrochemical sensors and sonochemically fabricated microelectrode arrays. *Sensors and Actuators B-Chemical* 141, 581-591 (2009).