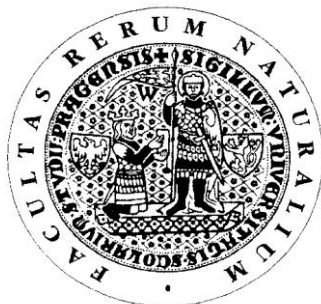


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Analytická chemie



Bc. Milan Libánský

KONSTRUKCE MĚŘÍCÍ CELY S ELEKTRODOU NA BÁZI UHLÍKOVÉHO FILMU

Construction of an electrochemical cell based on the carbon
film electrode

Diplomová práce

Vedoucí práce: Prof. RNDr. Jiří Zima, CSc.

Praha 2013

Tato práce byla finančně podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (projekt MSM 0021620857) a grantem Technologické agentury České republiky (projekt TA01020565).

Prohlášení:

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

Jsem si vědom toho, že případné použití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze, je možné pouze po písemném souhlasu univerzity.

V Praze dne 31. března 2013

Podpis:

Rád bych poděkoval Prof. RNDr. Jiřímu Zimovi, CSc. a Mgr. Haně Dejmkové za odborné vedení, cenné rady, připomínky a veškerou pomoc při vypracování mé diplomové práce. Zároveň bych chtěl poděkovat všem členům katedry analytické chemie za příjemné prostředí, které mi poskytovali během mé práce v laboratoři. Děkuji také svým rodičům, kteří mi umožnili studovat vysokou školu, a děkuji za jejich podporu během studia.

Klíčová slova:

Diferenční pulzní voltametrie

Cyklická voltametrie

Uhlíková kompozitní elektroda

Triclosan

Elektrochemická cela

Key words:

Differential pulse voltammetry

Cyclic voltammetry

Carbon composite electrode

Triclosan

Electrochemical cell

Abstrakt:

V této diplomové práci byla zkonstruována měrná cela s dvěma typy integrovaných kompozitních elektrod na bázi uhlíkových filmů. Na obou těchto elektrodách bylo prostudováno voltametrické chování environmentálního polutantu triclosanu (5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenolu).

Pro výrobu kompozitních elektrod byly jakožto vodivé mikročástice využity dva typy uhlíku, konkrétně grafit a skelný uhlík, a několik typů polymerů jakožto nevodivé pojivo. Za optimální materiály pro měření byly zvoleny kombinace grafit s polystyrenem a grafit s polykarbonátem.

Ze závislosti výšky píků na složení měřeného roztoku bylo pro stanovení zvoleno prostředí o $\text{pH} = 7$ a obsahu methanolu 10 %. Ve vybraném prostředí byla změřena kalibrační závislost, ze které byly určeny meze detekce triclosanu na hodnoty $0,49 \mu\text{mol dm}^{-3}$ pro uhlíkovou polystyrenovou kompozitní elektrodu, respektive $0,25 \mu\text{mol dm}^{-3}$ pro uhlíkovou polykarbonátovou kompozitní elektrodu.

Dále bylo zkoumáno, zda je možné zvýšit citlivost stanovení pomocí akumulčního kroku. Akumulace byla pozorována pouze na uhlíkové polystyrenové kompozitní elektrodě, ovšem za cenu ztráty opakovatelnosti výsledků. Na uhlíkové polykarbonátové kompozitní elektrodě nebyla akumulace pozorována ani po třiceti minutách.

Vyvinutá metoda stanovení triclosanu byla ověřena stanovením této látky v reálné matici říční vody a v reálném vzorku zubní pasty.

Určené meze detekce ve vzorku říční vody zhruba odpovídaly mezím naměřeným v kalibračních závislostech.

U reálného vzorku zubní pasty byla provedena extrakce triclosanu do methanolického roztoku. Obsah analytu byl následně stanoven metodou standardního přídávku. U uhlíkové polystyrenové kompozitní elektrody byla prokázána dobrá opakovatelnost měření a dobrá shoda naměřeného výsledku s deklarovaným obsahem triclosanu v zubní pastě. U uhlíkové polykarbonátové kompozitní elektrody byly zjištěné hodnoty koncentrací o několik procent nižší a s horší opakovatelností.

Abstract:

This Thesis deals with the construction of an electrochemical cell with two types of integrated composite electrodes based on carbon films. Using these electrodes, the voltammetric behavior of environmental pollutant triclosan (5-chlor-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol) was studied.

For the construction of composite electrodes, graphite and glassy carbon were used as conductive microparticles. Several types of polymers served as the nonconductive binder. For the measurements, combinations of graphite with polystyrene and graphite with polycarbonate were selected as optimum materials.

From the dependence of peak heights on solution composition, a mixture of a buffer of pH 7 and methanol (1:9, V/V) was selected as the optimum medium. In this medium, concentration dependences were measured; calculated triclosan detection limit were $0,49 \mu\text{mol dm}^{-3}$ for carbon polystyrene composite electrode and $0,25 \mu\text{mol dm}^{-3}$ for carbon polycarbonate composite electrode, respectively. The possibility of further increasing the sensitivity of the determination by the accumulation step was studied. Accumulation of triclosan on carbon polystyrene composite electrode was observed, but the increase in response was connected with the loss of repeatability. Accumulation of triclosan on carbon polycarbonate composite electrode was not observed even after thirty minutes.

The developed method for the determination of triclosan was verified by its determination in the real matrices of river water and in the real sample of toothpaste.

The obtained limit of detection in sample of the river water corresponds with the limits obtained from concentration dependences.

Extraction of triclosan from the real sample of toothpaste was carried out. Concentration of the analyte was determined by standard addition method. In the case of carbon polystyrene composite electrode, very good repeatability of the measurements and agreement of the determined and declared content of triclosan in the toothpaste was found. In the case of carbon polycarbonate composite electrode, about few percent lower amount of triclosan was found and also a worse repeatability was observed.

Obsah:

1. Teoretická část	10
1.1 Cíl práce	10
1.2 Pracovní uhlíkové elektrody	10
1.3 Uhlíkové kompozitní elektrody	11
1.4 Vlastnosti triclosanu	12
1.5 Způsoby stanovení triclosanu	14
2. Experimentální část	16
2.1 Použité chemikálie	16
2.2 Použitá aparatura	17
2.3 Další používaná zařízení	17
2.4 Studovaná látka	18
2.5 Pracovní postupy	18
2.5.1 Konstrukce měrné cely	18
2.5.2 Optimalizace složení kompozitní elektrody	19
2.5.3 Optimalizace měření	19
2.5.4 Reálný vzorek říční vody	19
2.5.5 Reálný vzorek zubní pasty	20
3. Výsledky a diskuze	21
3.1 Optimalizace složení kompozitní elektrody	21
3.2 Zkoumání elektrochemických vlastností vybraných kompozitních elektrod	22
3.3 Optimalizace pH prostředí	26
3.4 Vliv methanolu na odezvu pracovní elektrody	30
3.5 Ověření možnosti akumulace triclosanu	31
3.6 Koncentrační závislost	33
3.7 Stanovení triclosanu v reálných vzorcích	36

3.7.1 Reálný vzorek říční vody	36
3.7.2 Reálný vzorek zubní pasty	39
4. Závěr	42
5. Literatura	44

Seznam použitých zkratek:

BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
c_i	analytická koncentrace látky i
CFE	uhlíková filmová elektroda (carbon film electrode)
CV	cyklická voltametrie
DPV	diferenční pulzní voltametrie
E_p	potenciál píku
I_p	proud píku
I_A	proud anodického píku
I_K	proud katodického píku
LOD	mez detekce (limit of detection)
p.a.	pro analýzu
MeOH	methanol
PMMA	polymethylmethakrylát
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity oxoniových iontů
pKa	záporný dekadický logaritmus disociační konstanty
R	korelační koeficient
RSD	odhad směrodatné odchylky
SEM	skenovací elektronový mikroskop
t	čas
w	hmotnostní zlomek

1. Teoretická část

1.1 Cíl práce

Cílem této diplomové práce je konstrukce systému elektrodových měrných cel s integrovanými kompozitními pracovními elektrodami na bázi uhlíkových filmů (CFE) a s použitím těchto cel následný vývoj metody pro stanovení triclosanu (5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenolu), jakožto polutantu životního prostředí. Vývoj metody zahrnuje prozkoumání elektrochemického chování triclosanu (TCS) a následné využití získaných výsledků pro stanovení této látky v říční vodě a v reálném vzorku prostředku osobní hygieny.

1.2 Pracovní uhlíkové elektrody

Pracovní elektrody tvořené heterogenní směsí uhlíkových částic a pojiva jsou ceněné především pro svoji snadnou obnovitelnost či vyměnitelnost. U uhlíkových pastových elektrod, kde je pojivem pastovací kapalina, je nový elektrodový povrch získán otřením vytlačené části pasty z elektrodového těla^{1,2}. Na podobném principu fungují i pevné kompozitní elektrody plněné polymerem v kombinaci s uhlíkovým materiálem, kde obnova povrchu probíhá mechanickým vyleštěním, oříznutím použitého povrchu či chemickým vyčistěním^{3,4}. Další možný přístup obnovy je využíván zejména u sítotiskových elektrod s pevným, většinou polymerním pojivem (kompozit), kdy uhlíkový inkoust je přímo natištěn na keramické či plastové destičce a díky nízké ceně takovéto elektrodové sady je možné pro každé stanovení použít sadu novou^{5,6}. Variantou tištěné elektrody je uhlíková filmová elektroda, vytvořená pomocí depozice par za vzniku uhlíkového depozitu^{7,8}. Obnova povrchu zde probíhá klasickým vyleštěním a následnou opětovnou depozicí. Jako konstrukční varianta tištěných elektrod, která nevyžaduje složitou instrumentaci k nanášení, byly nedávno navrženy uhlíkové kompozitní filmové elektrody, které představují rovněž směs uhlíku a nevodivého pojiva. Tato směs je nanášena na běžnou pevnou elektrodu, která zde funguje pouze jako vodič. Obnovení povrchu je prováděno setřením starého a nanášením nového uhlíkového filmu⁹.

1.3 Uhlíkové kompozitní elektrody

Zatímco uhlíkové pastové elektrody a filmové elektrody z uhlíkového depositu byly využívány již od 60. let 20. století^{10,11}, tak vzestup pevných uhlíkových kompozitních elektrod je datován až o dvacet let později, kdy byly uděleny různé patenty^{12,13} a vyvinuta analytická stanovení právě s využitím tohoto typu elektrody¹⁴.

Pevné kompozitní elektrody jsou klasifikovány jako směs minimálně jedné vodivé fáze a jedné izolační nevodivé fáze, nejčastěji ve formě polymeru¹⁵. Jako vodivé fáze se obvykle využívají různé typy uhlíků, například grafit⁹, skelný uhlík¹⁶ či uhlíkové nanotrubičky¹⁷. Jako nevodivé pojivo se dají využít různé druhy polymeru, nejčastěji je to epoxidová pryskyřice¹⁸, polystyren⁹, polyester¹⁹ a polyvinylchlorid²⁰.

Samotná příprava uhlíkových kompozitních elektrod je snadná a je možné jí provádět rutinně v každé laboratoři. Příprava je především závislá na typu použitého nevodivého pojiva a způsobu zavedení vodiče. V mnoha případech je možné elektrodový materiál připravovat homogenizací uhlíkového materiálu s monomerem během iniciace polymerizace a následně plnit vnitřní část elektrodového těla, kde je již vodič zaveden³. U filmových elektrod je běžnější druhý způsob přípravy, kdy je polymer rozpuštěn v rozpouštědle s vysokou tenzí par, následně smíchán s uhlíkatými částicemi a po vytěkání rozpouštědla vzniká pevná kompozitní elektroda⁹.

Vlastnosti uhlíkových kompozitních elektrod jsou srovnatelné s vlastnostmi pevných elektrod. Uhlíkové kompozity poskytují vysoké odezvy signálů, nízký šum, široké potenciálové okno od -1,7 V do +1,9 V (v závislosti na pH měřeného roztoku), možnost měřit v široké škále roztoků o dostatečném rozsahu pH včetně organických rozpouštědel jako je methanol a v neposlední řadě jejich výroba je levná a koresponduje se „zelenou analytickou chemií“²¹.

Další výhodou uhlíkových kompozitních elektrod je možnost změny základní složky kompozitu podle stanovovaného analytu a možnost chemické modifikace elektrodové směsi. Příkladem může být modifikace pomocí iontových kapalin, jako jsou Q-chitosan²² či n-oktylpyridinhexafluorofosfát, který po přidání do elektrodové směsi zvyšuje rychlost elektronového přenosu a snižuje přepětí oxidační reakce při oxidaci kyseliny askorbové²³. Dalším příkladem využití modifikace uhlíkových kompozitních

elektrod může být například stanovení katechinu ve vzorcích čaje, kdy je pro zvýšení odezvy signálu analytu do elektrodového materiálu přidáván fosforečnan měďnatý²⁴.

Ve výčtu výhod je také nutné zmínit především široké pole využitelnosti uhlíkových kompozitních elektrod ve stanovení různorodých analytů. Využití uhlíkový kompozit je možné nejen pro stanovení anorganických látek²⁵, ale především v současné době nalézá uplatnění v organické analýze, ať již při jednoduchých stanoveních organických látek v environmentálních matricích^{23,26} či jako biosenzor při stanovení glukosy nebo různých biometabolitů v lidské moči^{27,3}.

Opravdu široké pole využitelnosti potvrzuje i využívání uhlíkových kompozitů jako ampérometrických detektorů u kapilární elektroforézy^{28,29} nebo v elektrochemickém průmyslu při výrobě kondenzátorů³⁰ a lithiových baterií ve formě uhlíkového kompozitního filmu³¹.

1.4 Vlastnosti triclosanu

Prostředky osobní hygieny zahrnují širokou škálu produktů, jako jsou mýdla, zubní pasty, deodoranty, pleťová mléka a mnoho dalších. Každý z těchto produktů obsahuje několik typů chemických sloučenin, které v případě užití produktu zajišťují potřebný účinek.

Triclosan je používán jako antibakteriální, antifungicidní a biocidní činidlo přidávané do mýdel, zubních past, deodorantů a v neposlední řadě i do spotřebitelských výrobků (ponožky, hračky, ložní prádlo)³². Triclosan je efektivní vůči mnoha typům bakterií a hub, dále funguje jako prevence proti bakteriálnímu množení. Triclosan blokuje syntézu mastných kyselin v bakteriální buňce inhibicí enoyl-CoA-reduktasy, ovšem nemá vliv na bakteriální spóry^{33,34}.

V roce 1969 byl registrován jako pesticid a o necelých čtyřicet let později americká EPA stanovila maximální povolené koncentrace výskytu a limity pro použití triclosanu³⁵, přičemž triclosan patřil na konci minulého tisíciletí mezi deset nejvíce stanovovaných organických odpadních sloučenin kontaminujících vodu na světě³⁶.

Triclosan je polychlorovaný difenylether s elektrochemicky oxidovatelnou hydroxylovou skupinou. Komerčně dodávaný triclosan je možné vyrobit až v 99% čistotě a je k dispozici jako bílá krystalická látka bez zápachu. Triclosan je velice

stabilní chemická sloučenina, a to až do teplot pohybujících se okolo 280 °C, což je jeden z hlavních důvodů, proč jej výrobci umísťují do domácích spotřebitelských produktů vyráběných z plastů a umělých vláken. Rozpustnost triclosanu ve vodném prostředí stoupá se zvyšující se hodnotou pH. Největší rozpustnost je prokázána v organických rozpouštědlech³⁷.

Do přírody se tato látka dostává nejčastěji v odpadních vodách domácností. Degradace triclosanu způsobená fotochemickými reakcemi v přírodě probíhá primárně na methyltriclosan a environmentálně škodlivé dioxiny, chlorfenoly a chloroform. Tato degradace je podpořena zvyšující se koncentrací rozpuštěného chlóru ve vodě³⁸. Konverze triclosanu na chlorované deriváty je závislá taktéž na hodnotě pH roztoku a na teplotě, kdy se zvyšující se hodnotou obou veličin dochází ke vzniku většího množství derivátů³⁹.

Při nedokonalém odstranění triclosanu v čističkách odpadních vod dochází k opakované expozici vodního biotopu a sedimentů. Triclosan se akumuluje v rostlinách, které jsou potravou pro většinu vodních živočichů. Vzhledem k jeho nepolární povaze následně dochází k sekundární akumulaci triclosanu v lipofilních tkáních nejen ryb⁴⁰, ale i mořských savců⁴¹.

U lidských tkání byla akumulace taktéž prokázána, především v játrech, ledvinách, plasmě⁴², ale také byl prokázán stanovitelný obsah v mateřském mléce. Nejčastějším původcem kontaminace organismu je požití vnitřních orgánů ryb, používání hygienických přípravků a nošení oblečení, které obsahuje vlákna s triclosanem⁴³. Triclosan je z lidského organismu vylučován močí, což nabízí nástroj pro snadný biomonitoring⁴⁴.

Akutní a chronická toxicita triclosanu u savců (včetně lidí) je v současné době velice sledované téma. Akutní toxicita byla mnohokrát testována na hlodavcích a mnoha dalších modelových savcích. Například v roce 1992 byla prováděna série testů na myších samcích, kterým byl podáván triclosan v podobných dávkách, jaké jsou absorbovány při jednorázovém používání kosmetických výrobků. Výsledky indikovaly, že triclosan je pro organismus savců málo toxický ($LD_{50} > 1 \text{ g kg}^{-1}$). Autoři této studie dále uvedli, že styk triclosanu, který je detekován v komerčních textiliích, s domácím bělidlem vede ke vzniku a uvolňování několika různých chlorovaných derivátů, které jsou toxicitější než triclosan⁴⁵. Toto zjištění vedlo určitou dobu k názoru, že nošení

těchto textilií by mohlo vyvolávat příznaky akutní intoxikace, ovšem současné studie toto tvrzení vyvracejí a poukazují na fakt, že triclosan užívaný v kosmetických přípravcích či ve styku s pokožkou nezpůsobuje u savců akutní intoxikaci⁴⁶.

Subakutní a chronická toxicita triclosanu byla prokázána řadou testů prováděných na myších, křečcích a paviánech, kdy po dlouhodobém podávání triclosanu docházelo u těchto savců k potlačení funkcí jaterních enzymů, k vzniku jaterní hypertrofie, endokrinní disrupci, zánětům ledvin a ke zvýšení obsahů peroxisomů v buňkách. Ovšem stejně jako u akutní toxicity novodobé výzkumy podporované FDA deklarují, že používání prostředků v běžné míře nemůže uživateli způsobit dlouhodobé zdravotní potíže⁴⁷. Z tohoto důvodu se aktuální výzkum spíše zabývá působením triclosanu na vodní organismy, kde je míra toxicity vyšší, než u suchozemských organismů.

1.5 Způsoby stanovení triclosanu

Triclosan je možné stanovovat různými analytickými metodami. Mezi hlavní metody patří zejména chromatografie s různými typy detektorů, dále voltametrická stanovení a z méně používaných i spektrometrické stanovení. Těmito metodami je triclosan stanovován ve vodě, kosmetických a desinfekčních prostředcích.

Při stanovení kosmetických přípravků (produktů osobní hygieny) pomocí HPLC je nejčastěji využívána kombinace HPLC s UV detekcí, kdy je využíváno absorpce záření triclosanem při 280 nm. Používá se klasická kolona C-18 s mobilní fází acetonitril s fosfátovým pufrem o pH 3 až 3,5. Při těchto stanoveních bylo dosaženo meze detekce od $2,0 \text{ mg dm}^{-3}$ do $5,0 \text{ mg dm}^{-3}$ (cit. 48,49).

V případě stanovení triclosanu v pitných a povrchových vodách metodou HPLC je jako nejběžnější detektor používána jednoduchá či dvojitá hmotnostní detekce. Pro zvýšení přesnosti měření a dosažení nižší meze detekce je využíváno například mikroextrakce s iontovou kapalnou fází⁵⁰. Zde je možné dosáhnout meze detekce až $0,38 \text{ ng dm}^{-3}$ (při použití extrakce), respektive $0,04 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$ až $0,58 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$ (bez extrakce)^{50,51,52}.

Speciálním typem stanovení je biomonitoring obsahu triclosanu v zubním plaku. Zkoumanému subjektu byl po dobu několika dní odebírán zubní plak po použití zubní pasty obsahující triclosan, který byl následně analyzován. Experimentální uspořádání

obsahuje spojení plynové chromatografie s atomovou emisní detekcí s dosaženým limitem detekce $0,5 \mu\text{g dm}^{-3}$ s odhadem relativní směrodatné odchylky devět procent⁵³.

Dalšími používanými metodami stanovení jsou již zmiňované metody elektrochemické. Při měření diferenční pulzní voltametrie s elektrodou ze skelného uhlíku o aktivním průměru 2 mm, které bylo prováděno v BR pufru o $\text{pH} = 3$ v přítomnosti dodecylsulfátu sodného, bylo dosaženo meze detekce $5 \mu\text{g dm}^{-3}$, což je hodnota srovnatelná s výsledky separačních metod⁵⁴.

Podobné výsledky, avšak s vyšší mezí detekce, vykazovalo i voltametrické stanovení v prostředí BR pufru o $\text{pH} = 10$, při použití sítotiskové uhlíkové elektrody. Relativní směrodatná odchylka byla menší u měřených koncentrací než tři procenta, kalibrační závislosti byly lineární až do hodnot $350 \mu\text{g dm}^{-3}$ (cit. 55).

V neposlední řadě je ještě nutné zmínit stanovení pomocí klasické přímé UV spektrometrie, kde je využíváno reakce triclosanu s diazoniovými ionty za vzniku azosloučeniny se žlutým zabarvením, jejíž absorpci je možné měřit při vlnových délkách okolo 452 nm. Dosažená mez detekce byla 80mg dm^{-3} s relativní směrodatnou odchylkou pod jedno procento⁵⁶.

2. Experimentální část

2.1 Použité chemikálie

Pro výrobu elektrod byly použity dva druhy uhlíku: grafitový prášek CR-2 (Grafit Týn, Česká republika) a sférické mikročástice skelného uhlíku (průměr 0,4 - 12 mikronů, Alfa Aesar, USA).

Jako pojivo byly testovány následující polymery: polymethylmethakrylát (PMMA), polystyren (obalový materiál), polykarbonát (konstrukční materiál), polyuretan (Chemoprén), chloroprenový kaučuk (Alkaprén 50), epoxidová pryskyřice (Epoxy 512), polyvinylchlorid (obalový materiál) a rovněž parafin.

K rozpuštění polymerů byla použita rozpouštědla: dichlorethan (99,5%, Merck, Německo), toluen (p.a., Lachema, Česká republika), aceton (p.a., Lachema, Česká republika), ethylacetát (p.a., Lachema, Česká republika), cyklohexan (p.a., Lachema, Česká republika) a tetrahydrofuran (p.a., Penta, Česká republika).

Studovanou látkou byl 5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenol neboli triclosan (Irgasan, $\geq 97\%$, Sigma Aldrich, USA). Zásobní roztok triclosanu o koncentraci 1 mmol dm^{-3} byl připraven rozpuštěním přesně odváženého množství látky v methanolu (p.a., Merck, Německo).

Roztoky o nižších koncentracích byly připravovány pipetováním přesného objemu zásobního roztoku a jeho následným naředěním na potřebnou koncentraci BR pufrům.

Zásobní roztok triclosanu byl uchováván v temnu v chladničce.

Brittonův- Robinsonův (BR) pufr byl připraven smísením dvou základních roztoků.

Prvním základním roztokem byl vodný roztok hydroxidu sodného (p.a., Penta, Česká republika) o koncentraci $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$. Druhým základním roztokem byl směsný roztok připravený kombinací kyseliny fosforečné (85%, $\rho = 1,71 \text{ g/ml}$, Lachema, Česká republika), kyseliny borité (p.a., Lachema, Česká republika) a kyseliny octové (99%, $\rho = 1,06 \text{ g/ml}$, Lach-Ner, Česká republika), každé o koncentraci $0,04 \text{ mol dm}^{-3}$.

Roztok 1 mmol dm^{-3} hexakvanoželeznatanu draselného (p.a., Lachema, Česká republika) byl připraven rozpuštěním přesně odváženého množství látky ve vodném roztoku 1 mol dm^{-3} chloridu draselného (p.a., Lachema, Česká republika).

Říční voda byla vzorkována dne 04. 02. 2013 na pobřeží řeky Vltavy v oblasti Praha Výtoň.

Jako reálný vzorek kosmetického produktu byla použita zubní pasta obsahující triclosan Colgate Total Advanced Fresh (Colgate-Palmolive, USA).

2.2 Použitá aparatura

Pro voltametrická měření byla použita tato aparatura:

Přístroje:

Cyklická voltametrie: Eco-Tribo polarograf (Polaro-Sensors, Česká republika)

Diferenční pulzní voltametrie: Mobilní potenciostat PalmSens (PalmSens, Nizozemí)

Elektrody:

Pracovní: zkonstruované uhlíkové kompozitní filmové elektrody.

Referentní: argentchloridová elektroda s 3 mol dm^{-3} KCl (Eco-Trend, Česká republika)

Pomocná: platinový drátek

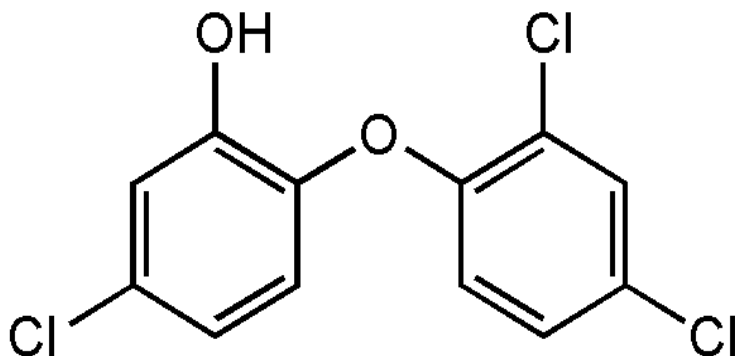
2.3 Další používaná zařízení

pH metr: Jenway 3510 (Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou

Elektronový skenovací mikroskop: JEOL JSM-6380LV (Německo)

OHM metr: Digital multimetr Metex M-4650CR (Korejská republika)

2.4 Studovaná látka



Obr.1

Strukturní vzorec triclosanu

C.A.S. jméno: (5-chlor-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol)

C.A.S číslo: 3380-34-5

Sumární vzorec: $C_{12}H_7Cl_3O_2$

Molární hmotnost: $289,545 \text{ g mol}^{-1}$

Bod tání: 329-331 K (56-58 °C)

pK_A : 7,8

Další používaná jména: triclosan, aquasept, gamophen, irgasan, sapoderm, cloxifenol

2.5 Pracovní postupy

2.5.1 Konstrukce měrné cely

Měrná cela byla konstruována z polypropylenové mikrotitrační destičky, kdy každá jednotlivá jamka o objemu 400 μl s integrovaným vodičem na dně nádobky fungovala jako měrná cela.

Není-li uvedeno jinak, bylo pro konstrukci pracovní elektrody odváženo 0,09 g uhlíkového materiálu, 0,01 g polymeru a následně přidáno 0,5 ml těkavého rozpouštědla. Po dokonalém rozpuštění polymeru byla celá směs homogenizována a následně byla pipetována do jednotlivých jamek mikrotitrační destičky. Po vytěkání rozpouštědla vznikla pevná kompozitní filmová elektroda. Při použití grafitu jako

uhlíkového materiálu bylo pipetováno 80 μl směsi, a při použití skelného uhlíku 100 μl směsi.

2.5.2 Optimalizace složení kompozitní elektrody

Do měrné cely bylo odpipetováno 350 μl 1 mmol dm^{-3} hexakynoželeznanu draselného v 1 mol dm^{-3} KCl a reverzibilita tohoto elektrochemického systému byla proměřena pomocí cyklické voltametrie při rychlosti polarizace 100 mV/s. Křivky byly měřeny v rozsahu -200 až 1000 mV.

Všechna měření byla pětikrát opakována.

2.5.3 Optimalizace měření

Vzorek pro voltametrická měření byl připravován odpipetováním potřebného objemu základního roztoku triclosanu do 10ml odměrné baňky, následným přidáním potřebného objemu methanolu a doplněním po rysku BR pufrům, promícháním a převedením 350 μl roztoku do měrné cely.

Všechna měření byla opakována pětikrát, není-li uvedeno jinak, a prováděna za laboratorní teploty.

Při měření diferenčních pulzních voltamogramů byly na elektrodu vkládány pulzy o amplitudě 50 mV a šířce 0,1 s, při rychlosti polarizace 20 mV s^{-1} . Křivky byly měřeny v potenciálovém rozsahu -100 až 1100 mV.

Při měření kalibračních závislosti triclosanu byly hodnoty zpracovávány metodou lineární regrese a meze detekce a stanovitelnosti byly stanoveny jako trojnásobek a desetinásobek poměru směrodatné odchylky (nejnižší naměřené kalibrační koncentrace) ke směrnici kalibrační křivky.

2.5.4 Reálný vzorek říční vody

Modelový vzorek triclosanu o koncentraci 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ v reálné matici říční vody byl připraven odpipetováním 0,8 ml odměrného roztoku triclosanu do 10ml odměrné baňky, přidáním 8 ml říční vody, 1 ml BR pufru o pH 7 a 0,2 ml methanolu, promícháním a do měrné cely bylo převedeno 350 μl tohoto roztoku. Při přípravě méně

koncentrovaných roztoků bylo pipetováno potřebné množství odměrného roztoku triclosanu, přidáno 8 ml říční vody, 1 ml BR o pH 7 pufru a vypočítané množství methanolu tak, aby výsledný obsah methanolu v roztoku byl 10 procent.

2.5.5 Reálný vzorek zubní pasty

Jako reálný vzorek byla použita zubní pasta Colgate o obsahu 0,3 % triclosanu. Vzorky byly pro měření připraveny sonifikací (20 minut) 0,1 g zubní pasty v 10 ml methanolu. Z tohoto vzorku byl následně odebrán 1 ml do 10ml odměrné baňky a doplněn po rysku BR pufrům o pH 7. Z odměrné baňky byl roztok převeden do měrné cely v objemu 350 μ l.

3. Výsledky a diskuze

3.1 Optimalizace složení kompozitní elektrody

Před samotnou integrací kompozitní elektrody do cely bylo nutné zjistit, které elektrodové směsi jsou pro budoucí elektrodu optimální po stránce nejen chemické, ale i uživatelské. Přehled testovaných materiálů je uveden v tab. I.

Tab. I

Přehled kombinací materiálů testovaných pro přípravu uhlíkových kompozitních filmových pracovních elektrod.

Typ uhlíku w (90 %, 80 %)	Polymer (pojivo) w (10 %, 20 %)	Rozpouštědlo V (0,5 ml)
grafit / skelný	polystyren	dichlorethan / toluen
grafit / skelný	parafin	rozpouštění teplem (100 °C)
grafit / skelný	PMMA	ethylacetát
grafit / skelný	polykarbonát	toluen / aceton / dichlorethan
grafit	polyuretan	aceton / cyklohexan
grafit	chloroprenový kaučuk	aceton / ethylacetát / cyklohexan / toluen / benzin
grafit / skelný	epoxidová pryskyřice	aceton (1 ml)
grafit / skelný	polyvinylchlorid	tetrahydrofuran (1 ml)

U vytvořených uhlíkových kompozitních filmových elektrod byly zkoumány následující vlastnosti:

- Přilnavost k materiálům: sklo, polypropylen, teflon, hliníková folie
- Tvorba prasklin po zaschnutí, rozpíjení a celistvost povrchu
- Doba zasychání elektrodové směsi
- Elektrický odpor elektrody (měřeno po zaschnutí na skleněné desce)

Vzniklé pevné uhlíkové kompozitní filmové elektrody, kde byl použit grafit, prokazovaly po zaschnutí dobrou přilnavost ke všem materiálům. Elektrody ze skelného uhlíku neprokázaly přilnavost pouze ke skleněnému povrchu. Grafitické elektrody tvořily po zaschnutí elektrodu robustnějšího kapkovitého tvaru s matně šedivým zabarvením, elektrody tvořené ze skelného uhlíku tvořily rovný černý povrch křehčího charakteru. Problémy s tvorbou prasklin nebyly u elektrod pozorovány.

Doba zasychání elektrodových směsí se pohybovala od tří minut až po několik dnů. Vzhledem k tomu, že u vyvinuté elektrodové cely byl požadavek na snadnou a rychlou kompletaci, byly z následujících měření vyřazeny elektrodové směsi obsahující parafin a dvousložkový epoxid, kde doba zasychání byla v rámci několika dnů a zároveň příprava samotných elektrod byla vzhledem k povaze a skupenství těchto materiálů uživatelsky komplikovaná.

Z dalších měření byly taktéž vyloučeny kombinace materiálů, kde byly objeveny problémy s rozpustností polymeru (chloroprenový kaučuk) nebo v případě kdy na elektrodě byl změřen příliš vysoký odpor v měřítku stovek až tisíců ohmů (PVC, polyuretan).

3.2 Zkoumání elektrochemických vlastností vybraných kompozitních elektrod

Nevyřazené elektrodové směsi (tab. II) byly následně integrovány ve formě kompozitního filmu do měrné polypropylenové cely. V těchto celách byly zkoumány základní elektrochemické vlastnosti elektrodového systému, konkrétně opakovatelnost měření, reverzibilita elektrochemické reakce v systému $K_4[Fe(CN)_6]$ v prostředí KCl a rozsah potenciálových oken v Brittonově-Robinsonově (BR) pufru o $pH = 2, 7$ a 12 .

Tab. II
Přehled kombinací elektrodových materiálů vybraných pro testování elektrochemických vlastností při přípravě uhlíkových kompozitních filmových elektrod.

Typ uhlíku w (90 %)	Polymer w (10 %)	Rozpouštědlo V (0,5 ml)
grafit / skelný	polystyren	dichlorethan
grafit / skelný	PMMA	ethylacetát
grafit / skelný	polykarbonát	dichlorethan

Během měření cyklických voltamogramů bylo zjištěno, že směsi, kde byl použit skelný uhlík v kombinaci s libovolným pojivem, neprokazují dostatečnou míru opakovatelnosti výsledků a reverzibilitu probíhající reakce (tab. III). Naměřené cyklické voltamogramy jsou zobrazené na obr. 2 a 3.

Kombinace grafitu s PMMA prokazovala dobré výsledky, ovšem pouze v případě, že se elektrodu podařilo úspěšně připravit, vyskytoval se zde totiž problém se zasycháním směsi v cele a s dostatečným kontaktem mezi vodičem a elektrodou, postihující přibližně polovinu vyrobených elektrod. Z tohoto důvodu byla tato kombinace materiálů z dalších měření rovněž vyloučena.

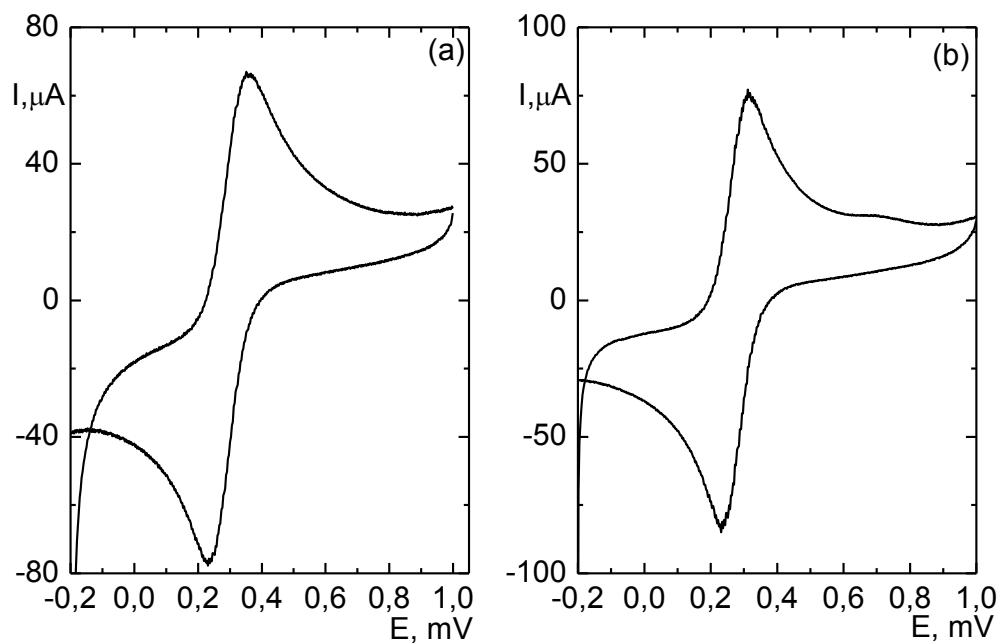
U zbylých dvou elektrodových směsí byly získané parametry poukazující na dobrou opakovatelnost měření (tab. III a obr. 4) a dvojici nově vyvinutých uhlíkových kompozitních elektrod integrovaných v měrné cele bylo možné použít na vývoj metody pro stanovení triclosanu.

Tab. III

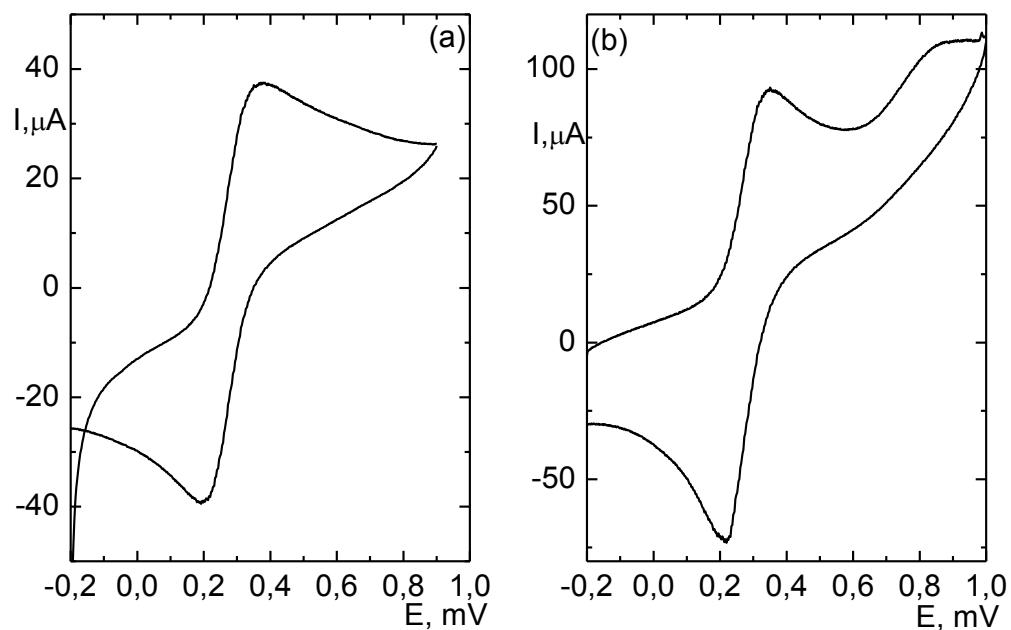
Parametry pracovních elektrod získané z měření cyklických voltamogramů 1 mmol dm^{-3} roztoku $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v 1 mol dm^{-3} KCl.

Typ elektrody	RSD^a %	$\Delta E_{\text{píků}}$ mV	I_A/I_K
grafit + PMMA	10,3	121 ± 20	0,87
skelný uhlík + PMMA	2,4	148 ± 67	0,88
grafit + polykarbonát	6,3	165 ± 15	0,91
skelný uhlík + polykarbonát	19,1	159 ± 40	0,87
grafit + polystyren	3,8	120 ± 7	0,91
skelný uhlík + polystyren	10,3	120 ± 20	0,85

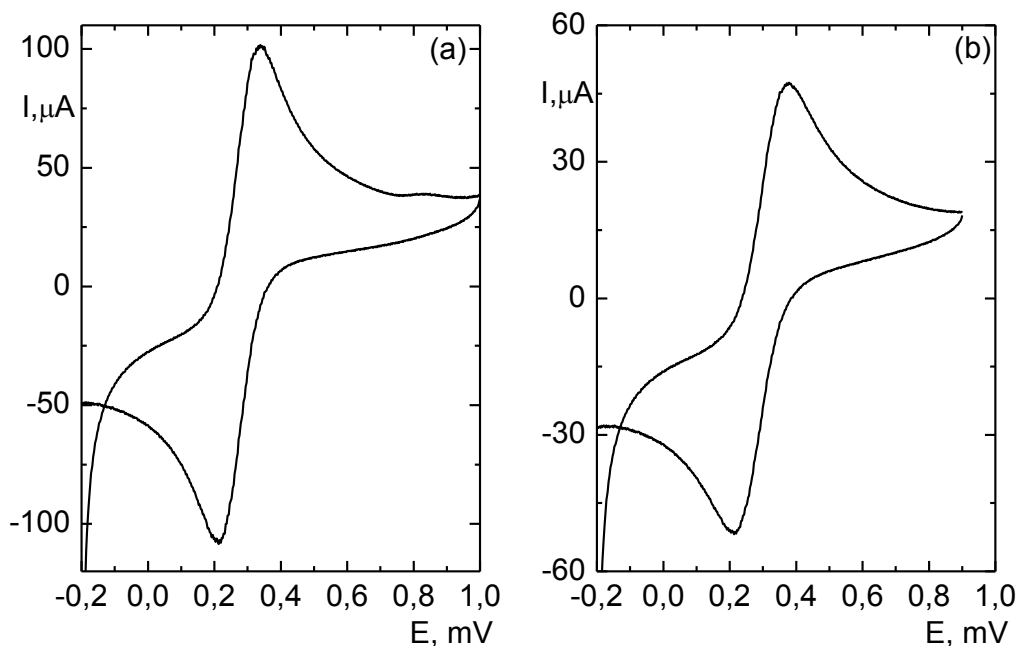
^a průměrná hodnota odhadu směrodatné odchylky výšky anodického a katodického píku



Obr. 2
 Cyklické voltamogramy 1 mmol dm⁻³ K₄[Fe(CN)₆] v 1 mol dm⁻³ KCl.
 (a) kompozitní elektroda: grafit + PMMA, (b) kompozitní elektroda: skelný uhlík + PMMA



Obr. 3
 Cyklické voltamogramy 1 mmol dm⁻³ K₄[Fe(CN)₆] v 1 mol dm⁻³ KCl.
 (a) kompozitní elektroda: skelný uhlík + polykarbonát, (b) kompozitní elektroda: skelný uhlík + polystyren

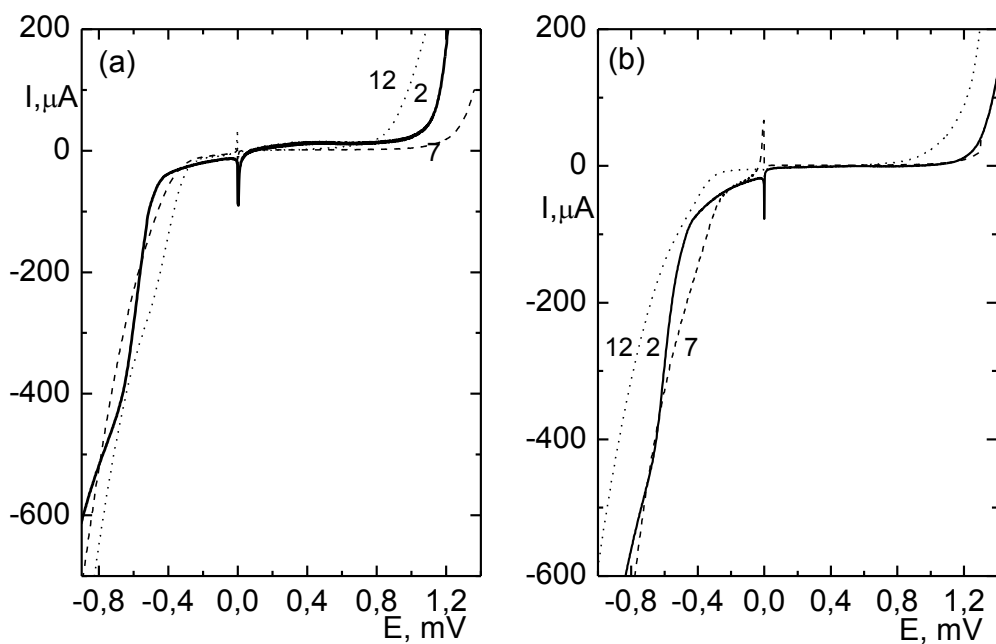


Obr. 4
 Cyklické voltamogramy $1\text{ mmol dm}^{-3} \text{ K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v $1\text{ mol dm}^{-3} \text{ KCl}$.
 (a) kompozitní elektroda: grafit + polystyren, (b) kompozitní elektroda: grafit + polykarbonát

Proměřené rozsahy šířky potenciálového okna vybraných elektrod jsou uvedeny v tab. IV a zobrazené na obr. 5. Při měření rozsahu potenciálového okna byl pozorován problém s obsahem kyslíku v měřeném roztoku, který poukazuje na účelnost použití elektrod především při potenciálech anodické oxidace.

Tab. IV
 Rozsah potenciálových oken vyvinutých pracovních elektrod

Typ elektrody	pH 2	pH 7	pH 12
grafit + polystyren	– 900 až 1100 mV	– 900 až 1200 mV	– 800 až 1000 mV
grafit + polykarbonát	– 900 až 1200 mV	– 900 až 1200 mV	– 800 až 1000 mV



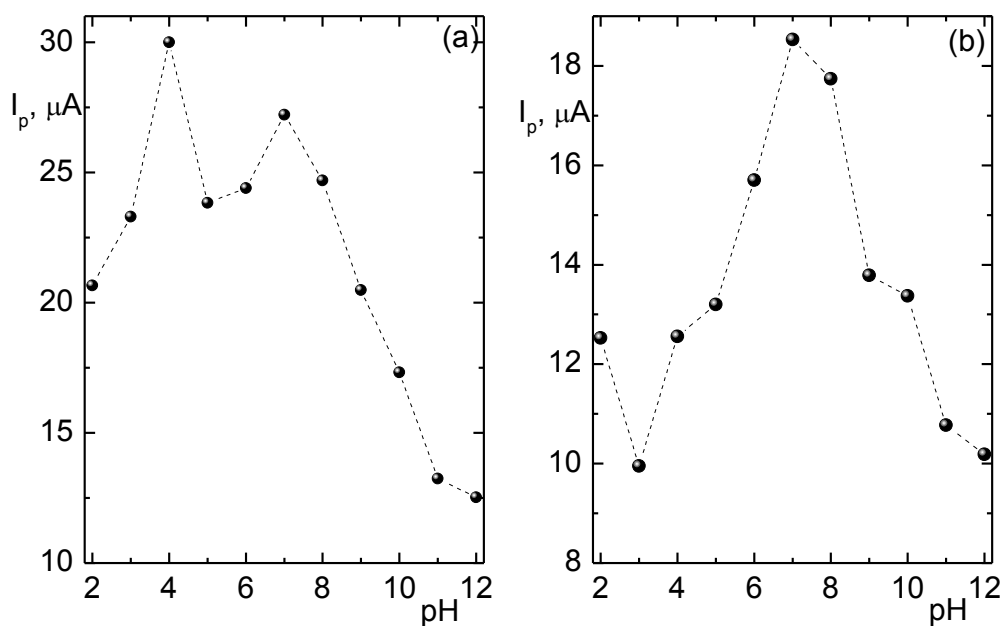
Obr. 5

Křivky rozsahu potenciálového okna BR pufru o různém pH měřené pomocí cyklické voltametrie na (a) uhlíkové kompozitní polystyrenové elektrodě, (b) uhlíkové kompozitní polykarbonátové elektrodě. Číslo křivky odpovídá zvolenému pH.

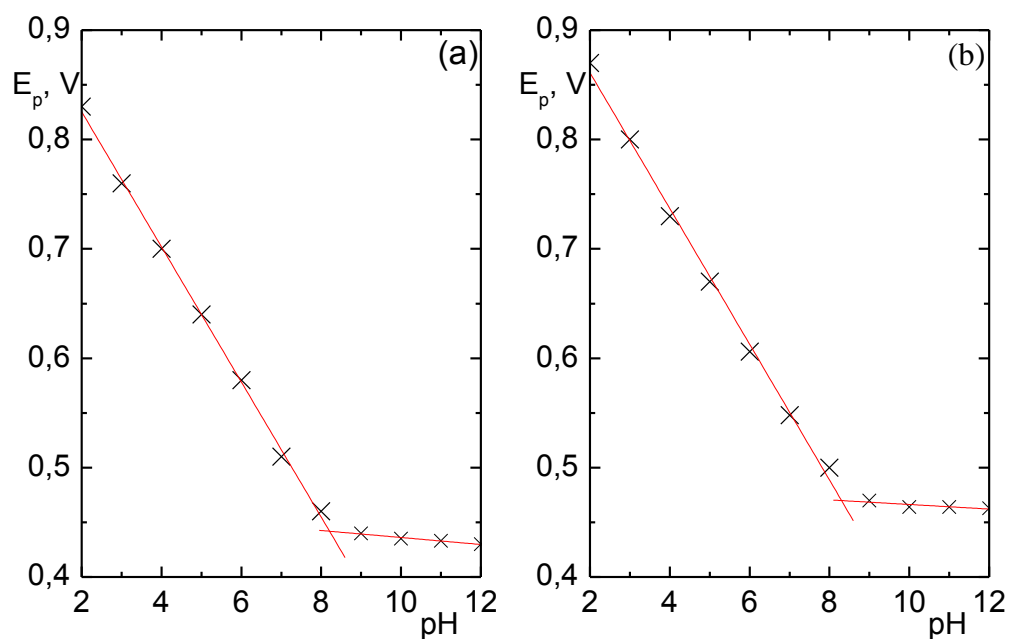
3.3 Optimalizace pH prostředí

Vliv pH na chování triclosanu při DPV na integrovaných uhlíkových kompozitních elektrodách v systému měrných cel byl sledován ve smíšeném prostředí BR pufru o hodnotě pH 2 až 12 s methanolem v poměru 90:10 (V/V). Koncentrace zásobního roztoku triclosanu byla $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$.

Naměřené hodnoty závislosti proudu píku (I_p) a potenciálu píku (E_p) na pH jsou ukázány na obr. 6 a obr. 7. Naměřené voltamogramy jsou zobrazené na obr. 8.



Obr. 6
 Závislosti velikosti proudu píku $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu na pH prostředí. Měřeno pomocí DPV v prostředí BR pufru s methanolem v poměru 90:10 (V/V).
 (a) uhlíková kompozitní polystyrenová elektroda, (b) uhlíková kompozitní polykarbonátová elektroda.

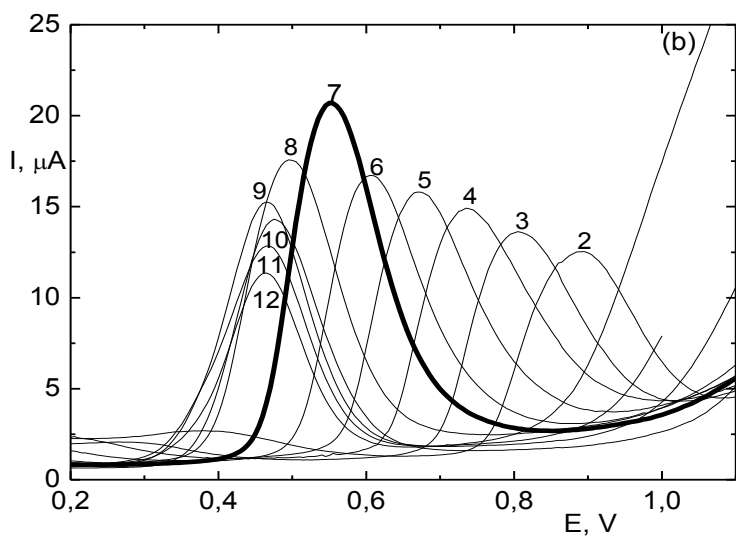
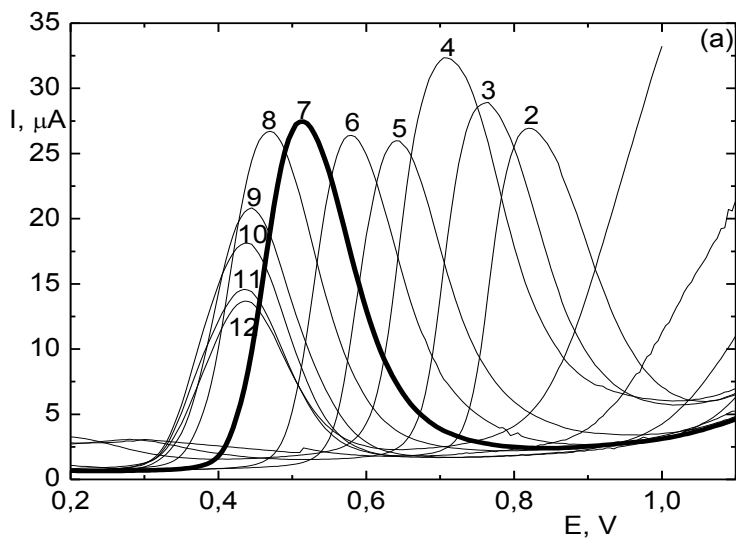


Obr. 7
 Závislosti potenciálu píku $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu na pH prostředí. Měřeno pomocí DPV v prostředí BR pufru s methanolem v poměru 90:10 (V/V).
 (a) uhlíková kompozitní polystyrenová elektroda, (b) uhlíková kompozitní polykarbonátová elektroda

Jak bylo zjištěno, triclosan poskytuje při všech měřených hodnotách pH dobře vyvinutý pík, jehož poloha se na obou elektrodách se zvyšujícím pH prostředí posouvá směrem k nižším hodnotám potenciálu. V oblasti, kde je triclosan disociován, tedy při pH vyšším než 8, se potenciál píků nemění. Z hlediska výšky píků se chování obou elektrod liší. U polystyrenové elektrody je v oblasti kyselých a neutrálních pH výška píků konstantní; v zásaditém prostředí dochází poté k poklesu výšky píků.

U polykarbonátové elektrody se s rostoucí hodnotou pH hodnota proudu píků lineárně zvyšuje až do hodnoty pH 7, kde dochází ke zlomu a následnému klesání. Velikost proudu pozadí a šumu je konstantní. Po spojení předešlých zjištění bylo jako optimální prostředí pro měření zvoleno pH 7.

Při porovnání těchto výsledků s měřením stejného roztoku na uhlíkové pastové elektrodě ze skelného uhlíku byla pozorována odlišná závislost⁵⁷; výška píku u vysokých pH rostla a nebyl pozorovatelný zlom v závislosti polohy píku na pH. Tyto rozdíly naznačují, že i přes podobnost obou elektrodových materiálů probíhá elektrochemická reakce jiným mechanismem.

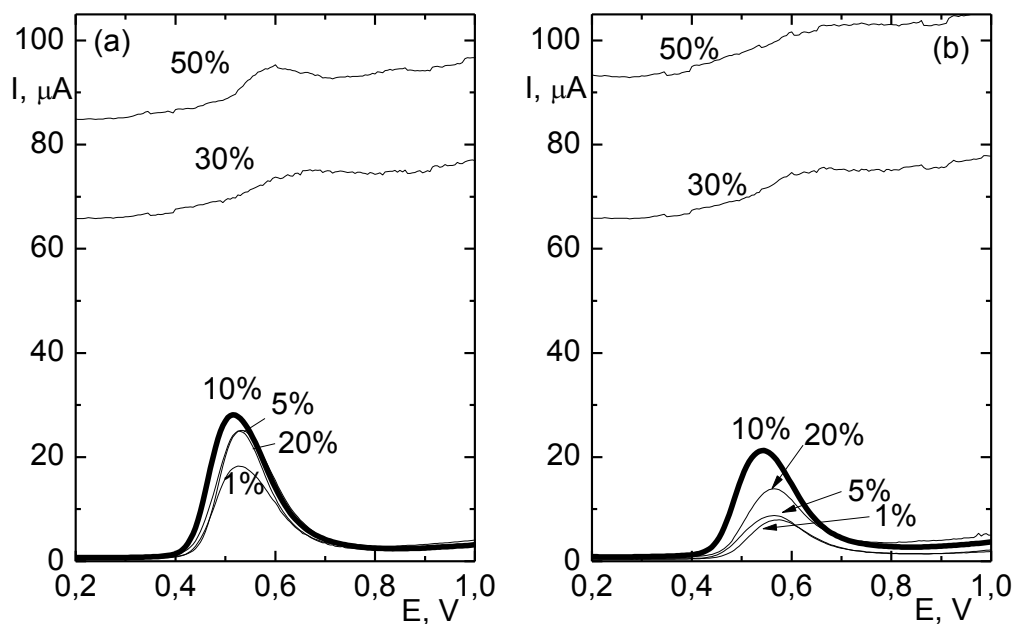


Obr. 8
 DP voltamogramy $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu. Měřeno na (a) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu a (b) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru s methanolem v poměru 90:10 (V/V) o pH odpovídajícímu číslu křivky.

3.4 Vliv methanolu na odezvu pracovní elektrody

Vzhledem k předchozím negativním zkušenostem s použitím filmových kompozitních elektrod ve smíšeném vodně-organickém prostředí⁹ bylo na obou pracovních elektrodách testováno, jak obsah methanolu v roztoku ovlivňuje výsledky měření, zda poškozuje elektrody a do jakého maximálního obsahu methanolu je možné získat kvalitní signál.

Tato závislost byla zkoumána v roztoku triclosanu o koncentraci $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$. Obsah methanolu v měřeném roztoku byl měněn v rozmezí 1 až 50 % ve směsi s BR pufrům o pH 7. Naměřené voltamogramy získané na obou typech elektrod jsou zobrazeny na obr. 9.



Obr. 9
DP voltamogramy $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu. Měřeno na (a) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu, (b) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru pH 7 s methanolem, jehož obsah je uveden u jednotlivých křivek.

Z výsledků měření je patrné, že až do 20% obsahu methanolu v roztoku lze získat měřitelnou odezvu v podobě vyhodnotitelného signálu. Stoupající výšku píku s rostoucím obsahem methanolu je možné vysvětlit zvýšeným poškozováním elektrody a naleptáváním jejího povrchu. Při tomto jevu pravděpodobně dochází ke vzniku prohlubní v elektrodové ploše a ke zvětšení aktivního povrchu elektrody, které se projevuje růstem signálu. Při překročení hranice 20% obsahu methanolu je ovšem zřejmě poškození natolik masivní, že jsou přerušena jednotlivá spojení mezi částicemi vodivého materiálu a další měření je prakticky nemožné.

Při nižších obsazích methanolu poskytuje nejvyšší odezvu 10% roztok, a proto byl pro další měření zvolen optimální poměr pufru o pH 7 a methanolu rovný 9:1 (V/V).

3.5 Ověření možnosti akumulace triclosanu

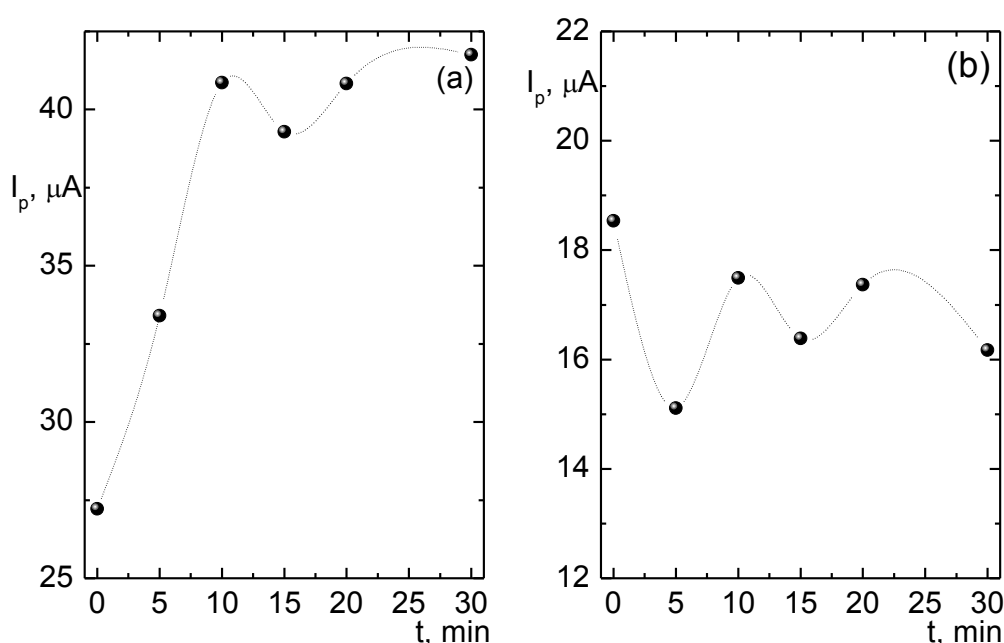
V další fázi práce bylo zkoumáno, jak intenzivní je interakce mezi pracovní elektrodou a roztokem triclosanu a zda tento efekt umožňuje přípravu vzorků do měrné cely před samotným měřením či zda je možnost zvýšit citlivost stanovení pomocí akumulčního kroku.

Měření byla prováděna v celách v nemíchaných roztocích triclosanu o koncentraci $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ ve zvoleném prostředí o pH 7 při poměru pufru a methanolu 9:1 (V/V) a 99:1 (V/V). Odezvy proudu píku na době akumulace byla měřena v čase 5, 10, 15, 20 a 30 minut. Tyto závislosti jsou zobrazeny pro poměr pufru a methanolu 9:1 (V/V) na obr. 10 a pro poměr pufru a methanolu 99:1 (V/V) na obr. 11.

a) Poměr pufru a methanolu 9:1 (V/V)

U uhlíkové kompozitní elektrody na bázi polystyrenu s časem akumulace rostl kontinuálně i proud píku, až do 10 minut, následně zůstal proud s časem neměnný. Tento fakt ukazoval na možnost využití akumulace ke zvýšení citlivosti, ovšem při proměřování koncentrační závislosti bylo zjištěno, že hodnoty proudu při akumulaci nejsou lineární funkcí koncentrace TCS. Z tohoto důvodu nebyl pro další měření akumulací krok zařazen.

U uhlíkové kompozitní elektrody na bázi polykarbonátu byly hodnoty proudu píku na době akumulace nezávislé. Hodnoty výšky píků oscilovaly v rozmezí $\pm 1,5 \mu\text{A}$.

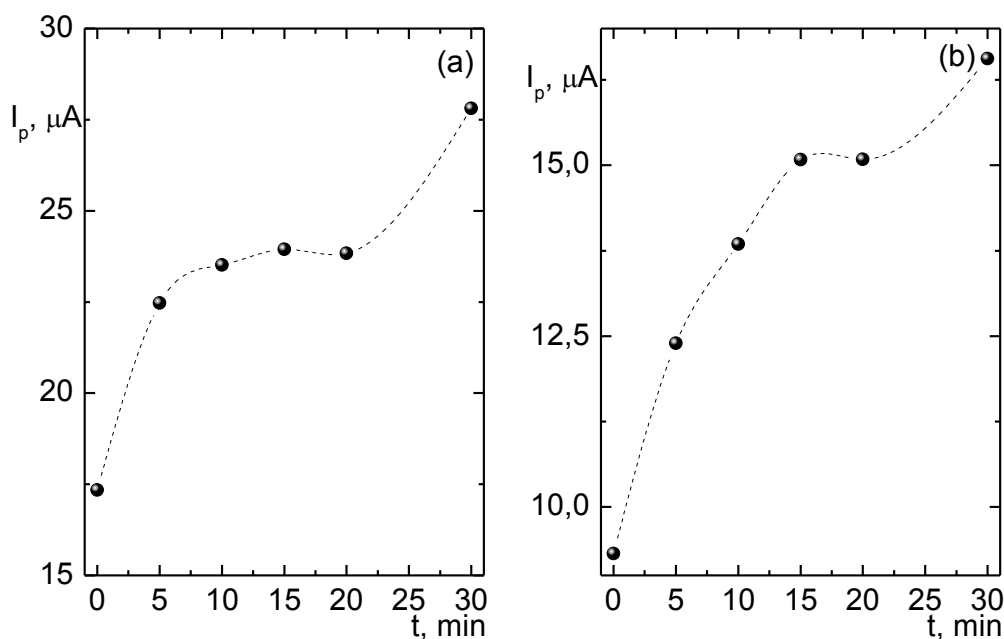


Obr. 10

Závislosti proudu píku $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu na době akumulace. Měřeno pomocí DPV na (a) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu, (b) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V).

b) Poměr pufru a methanolu 99:1 (V/V)

U obou používaných uhlíkových kompozitních elektrod s časem akumulace rostl kontinuálně i proud píku až do 30 minut. I přesto, že hodnota proudu v čase 30 minut vzrostla dvojnásobně oproti času bez akumulace, dosáhla odezva pouze stejné hodnoty jako u roztoku s poměrem pufru a methanolu 9:1 (V/V) bez akumulace. Z tohoto důvodu nebyl pro další měření akumulací krok v tomto roztoku zařazen.



Obr. 11

Závislosti proudu píku $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ triclosanu na době akumulace. Měřeno pomocí DPV na (a) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu, (b) uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru pH 7 s methanolem v poměru 99:1 (V/V).

3.6 Koncentrační závislost

Koncentrační závislosti triclosanu byly proměřeny v rozsahu 1 až $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (polystyrenový kompozit) a 2 až $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$ (polykarbonátový kompozit) v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V). Na obr. 12. jsou uvedeny kalibrační přímky v celém měřeném rozsahu. Voltamogramy pro obě uhlíkové kompozitní elektrody jsou zachyceny na obr. 13 a obr. 14. Parametry kalibrační přímky pro stanovení triclosanu pomocí DPV jsou uvedeny v tab. V.

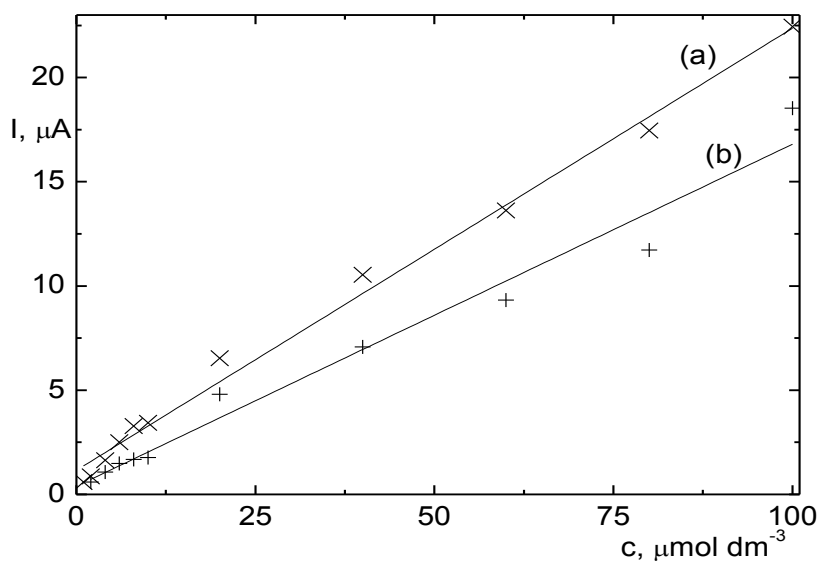
Opakovatelnost měření vyjádřená relativní směrodatnou odchylkou pro pět opakovaných měření v nejnižší měřené koncentrační hladině dosahuje hodnot $\text{RSD} = 5,8 \%$ (polystyrenový kompozit) a $\text{RSD} = 2,4 \%$ (polykarbonátový kompozit) Závislost je v měřeném rozsahu lineární, nicméně rozptyl hodnot u uhlíkové kompozitní elektrody na bázi polykarbonátu je větší, což můžeme pozorovat na nižší hodnotě korelačního koeficientu (tab. V). Hodnoty směrnice u obou elektrod jsou přibližně

srovnatelné, ovšem závislejší hodnota meze detekce je nižší u elektrody s menší směrnici, což je zapříčiněno právě menší hodnotou směrodatné odchylky.

Tab. V.

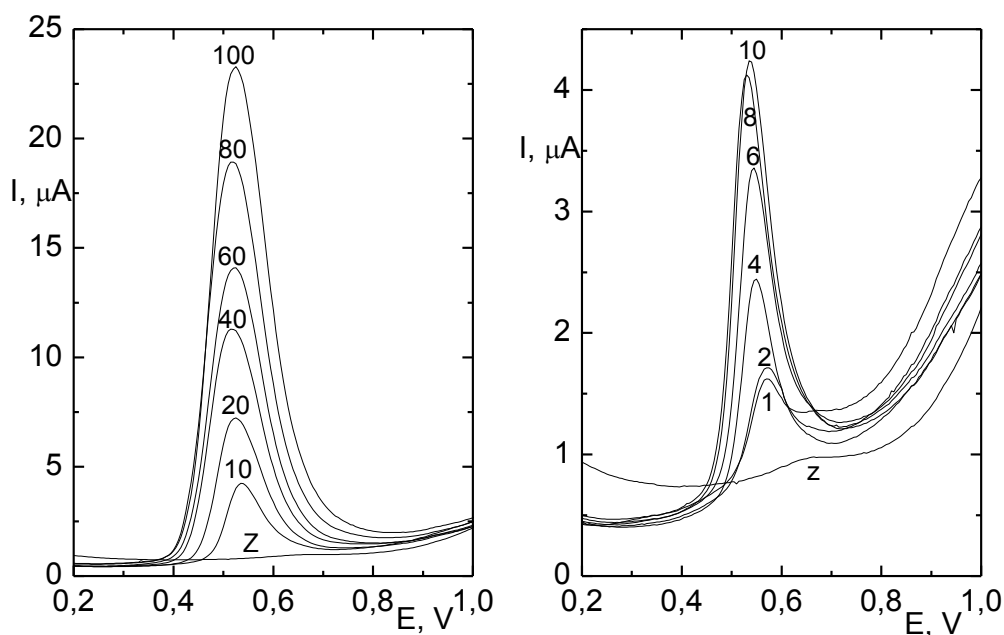
Vybrané parametry koncentračních závislostí triclosanu měřených pomocí DPV na pracovních elektrodách s různým typem pojiva v BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V)

Typ elektrody	c $\mu\text{mol dm}^{-3}$	Směrnice $\text{A dm}^3 \text{mol}^{-1}$	Úsek μA	R^2	LOD $\mu\text{mol dm}^{-3}$
polystyren	1 - 100	0,21	1,16	0,9927	0,49
polykarbonát	2 - 100	0,16	0,39	0,9731	0,25



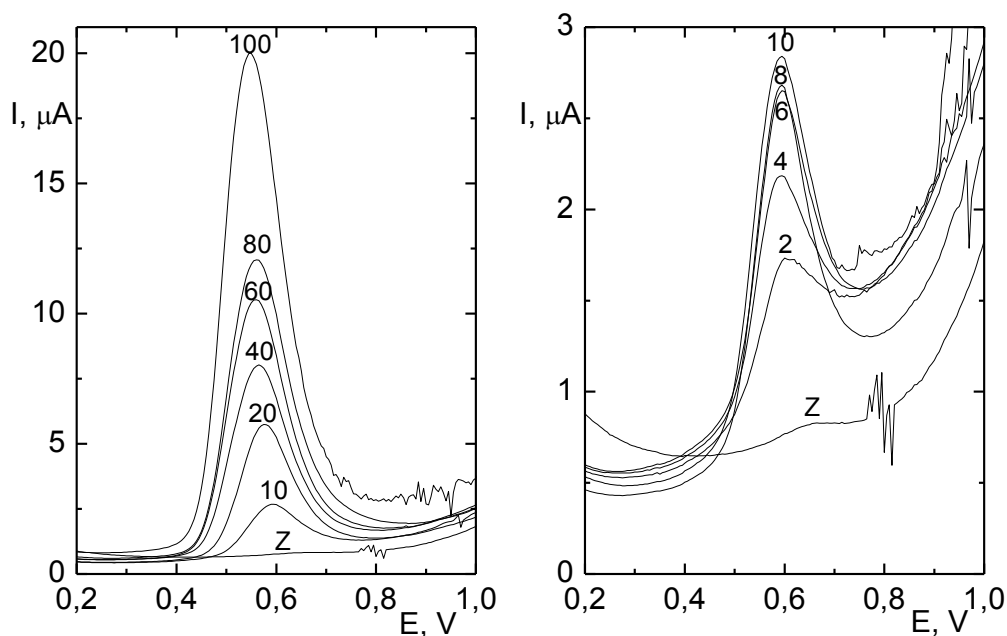
Obr. 12

Kalibrační závislost výšky DPV píku triclosanu v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V). (a) uhlíková kompozitní filmová elektroda na bázi polystyrenu, (b) uhlíková kompozitní filmová elektroda na bázi polykarbonátu.



Obr. 13

DP voltamogramy triclosanu měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V). Odpovídající koncentrace triclosanu v $\mu\text{mol dm}^{-3}$ je uvedena u křivek. (Z) základní elektrolyt.



Obr. 14

DP voltamogramy triclosanu měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V). Odpovídající koncentrace triclosanu v $\mu\text{mol dm}^{-3}$ je uvedena u křivek. (Z) základní elektrolyt.

3.7 Stanovení triclosanu v reálných vzorcích

Možnost využití zkonstruované cely a vyvinuté metody pro stanovení triclosanu byla testována na reálných vzorcích říční vody a vzorku zubní pasty s obsahem triclosanu 0,30 %. Bylo měřeno pomocí DPV v BR pufru o pH 7 bez akumulčních kroků.

3.7.1 Reálný vzorek říční vody

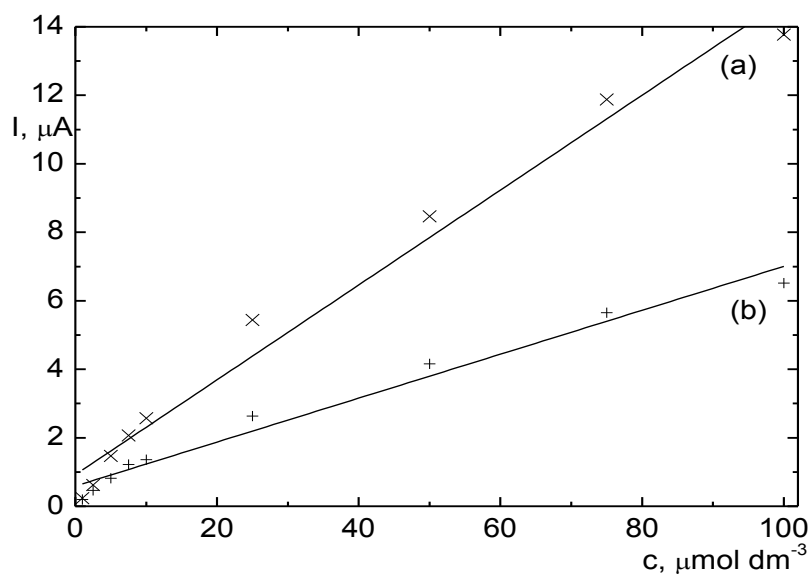
Z matrice vltavské říční vody byly připraveny modelové vzorky pro voltametrické měření v koncentračním rozmezí 1 až 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ s přidavkem BR pufru o pH 7 a methanolu (viz. Kap. 2.5.4). Celá kalibrační sada byla proměřena metodou DP voltametrie a parametry koncentrační závislosti jsou uvedeny v tab. VI. Na obr. 15. jsou uvedeny kalibrační přímky v celém měřeném rozsahu. Voltamogramy pro uhlíkovou kompozitní elektrodu na bázi polystyrenu jsou zachyceny na obr. 16, respektive na obr. 17 pro uhlíkovou kompozitní elektrodu na bázi polykarbonátu.

Opakovatelnost měření byla vyjádřena relativní směrodatnou odchylkou $\text{RSD} = 5,7 \%$ (polystyrenový kompozit) a $\text{RSD} = 2,3 \%$ (polykarbonátový kompozit) pro pět opakovaných měření v nejnižší měřené koncentrační hladině (tab. V). Směrnice přímky koncentrační závislosti triclosanu v říční vodě je, i s ohledem na ředění vzorku, nižší než směrnice přímky koncentrační závislosti téže látky v čistých rozpouštědlech. Dále oproti čistým rozpouštědlům byl pozorován problém s linearitou kalibrační křivky. Při proložení bodů zvláště nižšího a vyššího řádu kalibrační křivky bylo zjištěno, že získané směrnice, úseky a korelační koeficienty mají rozdílnou hodnotu vzájemně i oproti souhrnným hodnotám. Souhrnným hodnotám uvedeným v tab. VI se přibližovaly pouze parametry získané z vyššího koncentračního řádu. Získané meze detekce v matrici říční vody byly nicméně shodné s mezemi detekce získanými při měření v čistých rozpouštědlech.

Tab. VI.

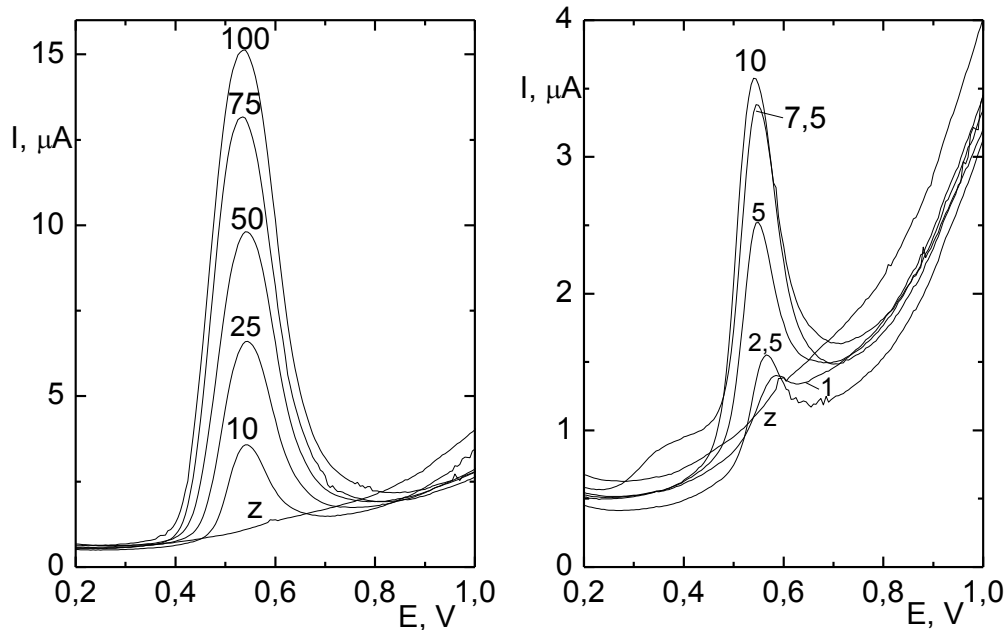
Vybrané parametry koncentračních závislostí triclosanu měřených pomocí DPV na pracovních elektrodách s různým typem pojiva v reálné matrici říční vody

Typ elektrody	c $\mu\text{mol dm}^{-3}$	Směrnice $\text{A dm}^3 \text{mol}^{-1}$	Úsek μA	R^2	LOD $\mu\text{mol dm}^{-3}$
polystyren	1 - 100	0,14	0,92	0,9804	0,29
polykarbonát	1 - 100	0,06	0,59	0,9782	0,24



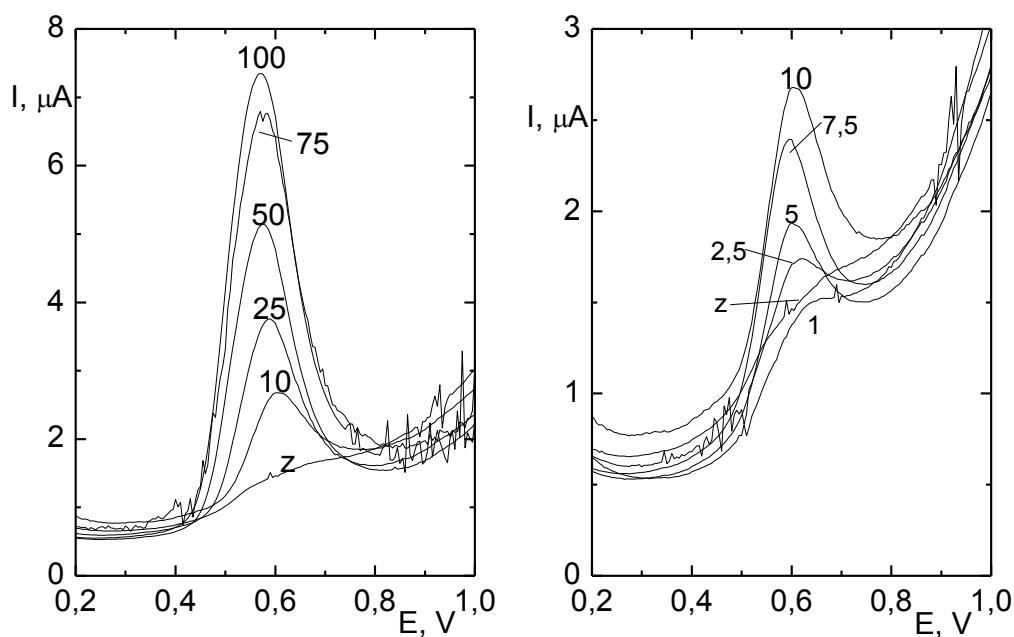
Obr. 15

Kalibrační závislost proudu DPV píku triclosanu v matrici říční vody v prostředí BR pufry o pH 7 s methanolem o obsahu 10 %. (a) uhlíková kompozitní filmová elektroda na bázi polystyrenu, (b) uhlíková kompozitní filmová elektroda na bázi polykarbonátu.



Obr. 16

DP voltamogramy triclosanu v matrici říční vody měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem o obsahu 10 %. Odpovídající koncentrace triclosanu je uvedena u křivek. (Z) základní elektrolyt.



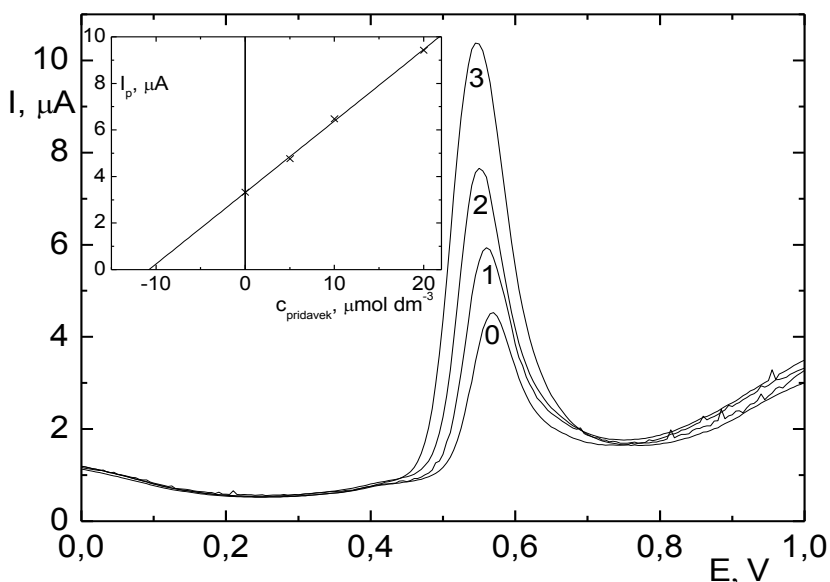
Obr. 17

DP voltamogramy triclosanu v matrici říční vody měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu v prostředí BR pufru o pH 7 s methanolem o obsahu 10 %. Odpovídající koncentrace triclosanu je uvedena u křivek. (Z) základní elektrolyt.

3.7.2 Reálný vzorek zubní pasty

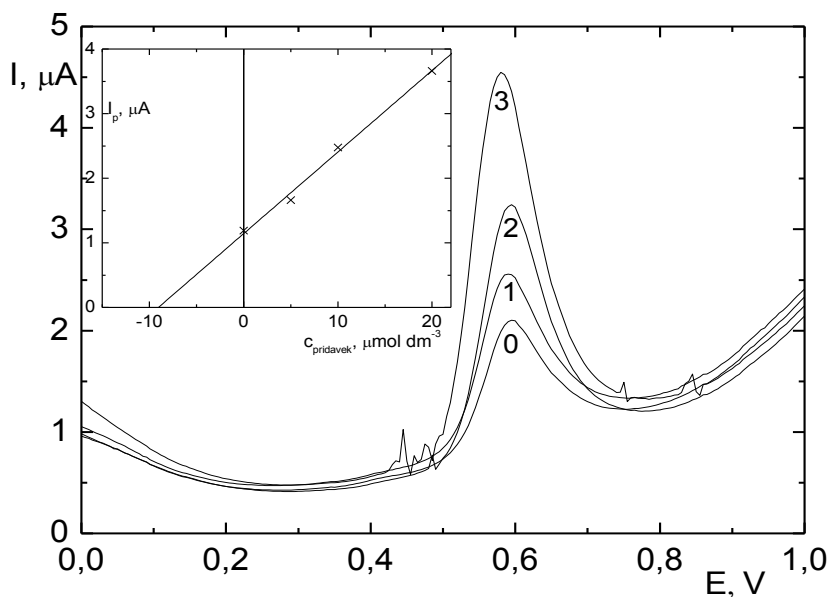
Po odvážení 0,1 g vzorku zubní pasty a sonifikaci (20 minut) v methanolu, byl odpipetován 1 ml roztoku do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplněn po rysku BR pufrům o pH 7. Vzniklý roztok byl poté převeden do měrných cel a proměřen v sérii samostatně a postupně s třemi přídávky standardního roztoku triclosanu o koncentraci $100 \mu\text{mol dm}^{-3}$. Objem standardních přídavek byl 50, 100 a 200 μl .

Naměřené hodnoty proudů v závislosti na koncentraci přidaného standardu byly vždy přepočítány na jednotný objem. Naměřené voltamogramy vzorků (křivky označené 0) na obou elektrodách spolu s voltamogramy standardních přídavek triclosanu (křivky označené 1, 2 a 3) jsou uvedeny na obr. 18 a obr. 19.



Obr. 18

DP voltamogramy zubní pasty s obsahem triclosanu v BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V) měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu, vložený graf zobrazuje závislost výšky píku na koncentraci standardního přídávku triclosanu. Odpovídající pořadí standardního přídávku je vždy uvedeno u křivek.



Obr. 19

DP voltamogramy zubní pasty s obsahem triclosanu v BR pufru o pH 7 s methanolem v poměru 9:1 (V/V) měřené na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu, vložený graf zobrazuje závislost výšky píku na koncentraci standardního přídávku triclosanu. Odpovídající pořadí standardního přídávku je vždy uvedeno u křivek.

Naměřené hodnoty pro sérii měření reálného vzorku zubní pasty na obou pracovních elektrodách jsou uvedeny v tab. VII a tab. VIII, a to společně s parametry jejich regresních závislostí.

Koncentrace měřených roztoků po extrakci triclosanu v zubní pastě do methanolu a po následném převedení do pufru o pH 7 měla dosahovat hodnoty $10,4 \mu\text{mol dm}^{-3}$, což odpovídá výrobcem deklarované hodnotě obsahu triclosanu ve vzorku zubní pasty 0,30 %. Deklarovaná hodnota obsahu triclosanu v zubní pastě použité k měření byla ověřena nezávislým stanovením pomocí HPLC s UV detekcí v téže laboratoři⁵⁷. K této hodnotě se přiblížily pouze výsledky měření na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu. Zde byl naměřen výsledek s 97% shodou při průměrném RSD = 2,9 % (n = 5). Na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polykarbonátu byl naměřen pouze 83% obsah triclosanu s RSD = 4,9 % (n = 5).

Při porovnání výsledků měření na obou pracovních elektrodách je patrné, že pro stanovení reálných vzorků zubní pasty je vhodnější použít elektrodu na bázi polystyrenu, jelikož vykazovala větší přesnost i správnost.

Tab. VII

Porovnání parametrů kalibračních závislostí triclosanu získaných měřením reálného vzorku zubní pasty se standardním přídatkem

Typ elektrody	Směrnice	Úsek	R^2	c
	$A \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1}$	μA		$\mu\text{mol dm}^{-3}$
grafit + polystyren	0,31	3,31	0,9992	10,8
grafit + polykarbonát	0,13	1,10	0,9870	8,3

Tab. VIII

Porovnání parametrů při stanovení triclosanu různými metodami

Typ elektrody	x_c^a	RSD	$L_{1,2}$	Obsah _{real} ^b	Obsah _{deklar.} ^c	Obsah _{HPLC} ^d
	$\mu\text{mol l}^{-1}$	%	$\mu\text{mol l}^{-1}$	%	%	%
grafit/polystyren	10,8	2,9	0,4	0,31±0,01	0,30	0,29±0,02
grafit/polykarbonát	8,3	4,9	0,5	0,25±0,02	0,30	0,29±0,02

^a průměrná hodnota koncentrace, ^b obsah triclosanu získaný z měření reálného vzorku, ^c výrobcem deklarovaný obsah triclosanu v zubní pastě, ^d obsah triclosanu získaný měřením pomocí HPLC s UV detekcí v téže laboratoři

4. Závěr

V této diplomové práci byla zkonstruována polypropylenová měrná cela s dvěma typy integrovaných kompozitních elektrod na bázi uhlíkových filmů. Na obou těchto elektrodách bylo prostudováno voltametrické chování systému hexakynoželezitan/hexakynoželezitan a environmentálního polutantu triclosanu (5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenolu), rozsah potenciálového okna, pH závislosti, vliv obsahu methanolu v roztoku na opakovatelnost výsledků, možnost akumulace na elektrodě a kalibrační závislosti za optimálních podmínek s určením mezí detekce a stanovitelnosti.

Při studování chování elektrochemického chování v systému hexakynoželezitan/hexakynoželezitan byla prokázána dobrá opakovatelnost naměřených výsledků.

Při měření roztoku triclosanu bylo zjištěno, že optimální prostředí pro měření je v pufru o pH 7. Ukázalo se, že při měření v methanolicích roztocích dochází k interakci methanolu s pracovními elektrodami. Při vyšším obsahu methanolu v roztoku dochází k destrukci elektrody, která další měření znemožňuje. Dále bylo v této souvislosti zkoumáno, zda je při nižších obsazích methanolu možné zařadit akumulační krok. Výsledky poukázaly na možnost akumulace, ovšem pak dochází ke ztrátě linearitní závislosti triclosanu.

Při porovnání naměřených mezí detekce na obou elektrodách s měřeními prováděnými na uhlíkové pastové elektrodě⁵⁷ bylo zjištěno, že získané hodnoty jsou srovnatelné. Na uhlíkové kompozitní filmové elektrodě na bázi polystyrenu byly určeny meze detekce na hodnoty $0,49 \mu\text{mol dm}^{-3}$ a $0,25 \mu\text{mol dm}^{-3}$ pro uhlíkovou kompozitní filmovou elektrodu na bázi polykarbonátu. Následně byla metoda vyvinutá na standardním roztoku triclosanu aplikována na stanovení triclosanu v matrici říční vody. Zde bylo taktéž dosaženo srovnatelného limitu detekce jako u modelových vzorků. Obě vyvinuté pracovní elektrody měly vzájemně srovnatelné parametry měření.

Dále byla vypracovaná metoda ověřena na reálném vzorku zubní pasty o deklarovaném obsahu triclosanu 0,30 %. Spolehlivější výsledky zde poskytovala uhlíková kompozitní filmová elektroda na bázi polystyrenu, kde bylo dosaženo 97% shody s deklarovanou hodnotou koncentrace triclosanu s odhadem směrodatné odchylky pod tři procenta. U uhlíkové kompozitní filmové elektrody na bázi polykarbonátu byla

shoda pouze 83% s odhadem směrodatné odchylky okolo 5 %. Pro analýzu zubních past je vhodnější použít první zmiňovaný typ elektrody.

Z předchozích výsledků je patrné, že nově zkonstruované cely s novými integrovanými elektrodami jsou při stanovení triclosanu schopné konkurovat konvenčním uhlíkovým elektrodám.

Dále je možné říci, že integrace elektrod do malé polypropylenové cely poskytuje z hlediska analytické chemie potenciál pro široké komerční použití. Vyvinutá cely, která je primárně zaměřena na terénní měření, poskytuje spolehlivé výsledky prokazující její vhodnost pro tento záměr. Při spojení systému obsahujícího několik desítek měrných cel zapojených v sérii s přenosným potenciostatem získáváme mobilní měrné zařízení malých rozměrů, které při monitorovacích měřeních nebude zatěžovat životní prostředí, bude vyžadovat malé množství vzorku pro analýzu a zároveň náklady na jednu analýzu se dostanou na téměř zanedbatelnou cenu ve srovnání s komerčně používanými laboratorními přístroji.

5. Citace - Literatura

- [1] Švancara I., Vytřas K.: Příprava a vlastnosti uhlíkových pastových elektrod, *Chemické listy* **88**, 138-146 (1994).
- [2] Zima J.; Švancara I.; Barek J.; Vytřas K.: Recent advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **39**, 204-227 (2009).
- [3] Navrátil T.; Senholdova Z.; Shanmugam K.; Barek J.: Voltammetric determination of phenylglyoxylic acid in urine using graphite composite electrode, *Electroanalysis* **18**, 201-206 (2006).
- [4] Stulik K.; Pacakova V.; Starkova B.: Carbon pastes for voltammetric detectors in high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography* **213**, 41-46. (1981).
- [5] Renedo O. D.; Alonso-Lomillo M. A.; Martínez M. J. A.: Recent developments in the field of green-printed electrodes and their related applications, *Talanta* **73**, 202-219 (2007).
- [6] Falciola L.; Pifferi V.; Mascheroni E.: Platinum-Based and Carbon-Based screen printed electrodes for the determination of benzidine by differential pulse voltammetry, *Electroanalysis* **24**, 767-775 (2012).
- [7] Ryabchikov A. I.; Petrov A. V.; Polkovnikova N. M.; Struts V. K.; Usov Y. P.; Arfyev V. P.: Carbon film deposition by powerful ion beams, *Surface and Coatings Technology* **201**, 8499-8502 (2007).
- [8] Marcinauskas L.; Valincius V.; Grigonis A.: Deposition and structure characterization of carbon films prepared at atmospheric pressure by plasma jet, *Surface and Coatings Technology* **205**, 71-74 (2011).
- [9] Yosypchuk B.; Barek J.; Fojta M.: Carbon powder based films on traditional solid electrodes as an alternative to disposable electrodes, *Electroanalysis* **18**, 1126-1130 (2006).
- [10] Adams, R.N.: Carbon paste electrodes, *Analytical Chemistry* **30**, 1576-1578 (1958).
- [11] Beilby A.L.; Brooks W.; Lawrence G.L.: Comparison of pyrolytic carbon film electrode with-impregnated graphite electrode, *Analytical Chemistry* **36**, 22-26 (1964)
- [12] GB Pat 2135334. Marshall A.: *Composite carbon electrode* 30.8.1984
- [13] JP Pat 62017956. Hirota A.; Hashimoto T.; Fujii T.: *Carbon fiber-carbon composite electrode* 17.7.1985

- [14] Stara V.; Kopanica M.: Chemically modified carbon paste and carbon composite electrodes, *Electroanalysis* **1**, 251-256 (1989)
- [15] Petersen S. L.; Tallman D. E.: Silver composite electrode for voltammetry, *Analytical Chemistry* **60**, 82-86 (1988)
- [16] Ping J. F.; Wu J.; Ying Y. B.; Wang M. H.; Liu G.; Zhang, M.: Development of a novel carbon composite electrode for trace determination of heavy metals in milk, *Transactions of the ASABE* **54**, 1829-1835 (2011). CAN157:407987
- [17] Merkoci A.: Carbon nanotubes in analytical science, *Microchimica Acta* **152**, 157-174 (2006).
- [18] Navratil T.; Barek J.; Kopanica M.: Anodic stripping voltammetry using graphite composite solid electrode, *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **74**, 1807-1826 (2009).
- [19] Cespedes F.; Alegret S.: New materials for electrochemical sensing: glucose biosensors based on rigid carbon-polymer biocomposites, *Food Technology and Biotechnology* **34**, 143-146 (1996).
- [20] Albertus F.; Llerena A.; Alpizar J.; Cerda V.; Luque M.; Rios A.; Valcarcel M.: A PVC-graphite composite electrode for electroanalytical use. Preparation and some applications, *Analytica Chimica Acta* **355**, 23-32 (1997)
- [21] Barek J.; Fischer J.; Navratil T.; Peckova K.; Yosypchuk B.; Zima J.: Nontraditional electrode materials in environmental analysis of biologically active organic compounds, *Electroanalysis* **19** 2003–2014 (2007).
- [22] Jirimali H. D.; Nagarale R. K.; Saravanakumar D.; Lee J. M.; Shin W.: Hydroquinone modified chitosan/carbon film electrode for the selective detection of ascorbic acid, *Carbohydrate Polymers* **92**, 641-644 (2013).
- [23] Ping J.; Wang Y.; Wu J.; Ying Y.; Ji F.: Determination of ascorbic acid levels in food samples by using an ionic liquid–carbon nanotube composite electrode, *Food Chemistry* **135**, 362-367 (2012).
- [24] Freitas K. H. G.; Fatibello-Filho O.: Carbon composite electrode modified with copper(II) phosphate immobilized in a polyester resin for voltammetric determination of catechin in teas, *Analytical Letters* **43**, 2091-2104 (2010).
- [25] Noskova G.N.; Zakharova E.A.; Kolpakova N.A.; Kabakaev A.S.: Electrodeposition and stripping voltammetry of arsenic(III) and arsenic(V) on a carbon black–polyethylene composite electrode in the presence of iron ions, *Journal of Solid State Electrochemistry* **16**, 2459-2472 (2012).

- [26] Prasek J.; Huska D.; Jasek O.; Zajickova L.; Trnkova L.; Adam V.; Kizek R.; Hubalek J.: Carbon composite micro- and nano-tubes-based electrodes for detection of nucleic acids, *Nanoscale Research Letters* **6**, 385-390 (2011).
- [27] Barsan M. M.; Brett C. M. A.: A new modified conducting carbon composite electrode as sensor for ascorbate and biosensor for glucose, *Bioelectrochemistry* **76**, 135–140 (2009).
- [28] Hua L.; Tan S. N.: Amperometric detection for capillary electrophoresis at a sol-gel carbon composite electrode, *Analytica Chimica Acta* **403**, 179-186 (2000).
- [29] Tan S. N.; Hua L.: Amperometric detection of cytochrome c by capillary electrophoresis at a sol-gel carbon composite electrode, *Analytica Chimica Acta* **450**, 263-267 (2001).
- [30] He P.; Xie Z.; Chen Y.; Dong F.; Liu H.: Co₂SnO₄/activated carbon composite electrode for supercapacitor, *Materials Chemistry and Physics* **137**, 576-579 (2012). CAN158:47817
- [31] Zhao X.; Xia D.; Zheng K.: Fe₃O₄/Fe/Carbon composite and its application as anode material for lithium-ion batteries, *ACS Applied Materials & Interfaces* **4**, 1350-1356 (2012).
- [32] Dann A. B.; Hontela A.: Triclosan: environmental exposure, toxicity and mechanisms of action, *Journal of Applied Toxicology* **31**, 285-311 (2011).
- [33] McMurry L. M.; Oethinger M.; Levy S. B.: Triclosan targets lipid synthesis, *Nature (London)* **394**, 531-532 (1998).
- [34] Levy C. W.; Roujeinikova A.; Sedelnikova S.; Baker P. J.; Stuitje A. R.; Slabas A. R.; Rice D. W.; Rafferty J. B.: Molecular basis of triclosan activity, *Nature (London)* **398**, 383-384 (1999).
- [35] U. S. Environmental Protection Agency, Triclosan - Occupational and Residential Exposure Assessment, Washington DC, (2008), Dostupné z URL: http://oehha.ca.gov/prop65/public_meetings/052909coms/triclosan/ciba9.pdf [10.03. 2013]
- [36] Halden R. U.; Paull D. H.: Co-Occurrence of Triclocarban and Triclosan in Water Resources, *Environmental Science and Technology* **39**, 1420-1426 (2005).
- [37] Bhargava H. N.; Leonard P. A.: Triclosan: applications and safety, *American Journal of Infection Control* **24**, 209-218 (1996).
- [38] Rule K.L.; Ebbett V.R.; Vikesland P.J.: Formation of chloroform and chlorinated organics by free-chlorine-mediated oxidation of triclosan, *Environmental Science and Technology* **39**, 3176–3185 (2005).

- [39] Fiss E.M.; Rule K.L.; Vikesland P.J.: Formation of chloroform and other chlorinated byproducts by chlorination of triclosan-containing antibacterial products, *Environmental Science and Technology* **41**, 2387–2394 (2007).
- [40] Boehmer W; Ruedel H.; Weinzl A.; Schroeter K. C.: Retrospective monitoring of Triclosan and methyltriclosan in fish: results from the German environmental specimen bank, *Organohalogen Compounds* **66**, 1516–1521 (2004).
- [41] Fair P. A.; Lee H. B.; Adams J.; Darling C.; Pacepavicius G.; Alaei M.; Bossart G. D.; Henry N.; Muir D.: Occurrence of triclosan in plasma of wild Atlantic bottlenose dolphins and in their environment, *Environmental Pollution (Oxford, United Kingdom)* **157**, 2248-2254 (2009).
- [42] Hovander L.; Malmberg T.; Athanasiadou M.; Athanassiadis I.; Rahm S.; Bergman A; Wehler E. K.: Identification of hydroxylated PCB metabolites and other phenolic halogenated pollutants in human blood plasma, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **42**, 105-117 (2002).
- [43] Adolfsson E. M.; Pettersson M.; Parkkonen J.; Sturve J.: Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden, *Chemosphere* **46**, 1485–1489 (2002).
- [44] Queckenberg C.; Meins J.; Wachall B.; Doroshyenko O.; Tomalik S. D.; Bastian B.; Abdel T. M.; Fuhr U.: Absorption, pharmacokinetics, and safety of triclosan after dermal administration, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **54**, 570-572 (2010).
- [45] Kanetoshi A.; Katsura E.; Ogawa H.; Ohyama T.; Kaneshima K.; Kiura T.: Acute toxicity, percutaneous absorption and effects on hepatic mixed function oxidase activities of 2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300) and its chlorinated derivatives, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **23**, 91-98 (1992).
- [46] Rodricks J. V.; Swenberg J. A.; Borzelleca J. F.; Maronpot R. R.; Shipp A. M.: Triclosan: A critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products, *Critical Reviews in Toxicology* **40**, 422-484 (2010).
- [47] Aiello A. E.; Larson E. L.; Levy S. B.: Consumer antibacterial soaps: effective or just risky?, *Clinical Infectious Diseases* **45**, 137-147 (2007).
- [48] Liu T.; Wu D.: High-performance liquid chromatographic determination of triclosan and triclocarban in cosmetic products, *International Journal of Cosmetic* **34**, 489-494 (2012).
- [49] Piccoli A.; Fiori J.; Andrisano V.; Orioli M.: Determination of triclosan in personal health care products by liquid chromatography, *Farmaco* **57**, 369-372 (2002).

- [50] Zhao R.-S.; Wang X.; Sun J.; Wang S.-S.; Yuan J.-P.; Wang X.-K.: Trace determination of triclosan and triclocarban in environmental water samples with ionic liquid dispersive liquid-phase microextraction prior to HPLC-ESI-MS-MS, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **397**, 1627-1633 (2010).
- [51] Shen J. Y.; Chang M. S.; Yang S.-H.; Wu G. J.: Simultaneous determination of triclosan, triclocarban, and transformation products of triclocarban in aqueous samples using HPLC-MS/MS, *Journal of Separation Science* **35**, 2544-2552 (2012).
- [52] Ou X.; Hu Y.; Zhu B.: Determination of triclosan with HPLC-APCI-MS, *Huanjing Huaxue* **31**, 909-914 (2012). CAN157:336841
- [53] Rasmussen H. T.; McDonough R.; Gargiullo R. J.; McPherson B. P.: Determination of triclosan in human dental plaque by gas chromatography with atomic emission detection, *Journal of High Resolution Chromatography* **19**, 359-361 (1996).
- [54] Fotouhi L.; Shahbaazi H. R.; Fatehi A.; Heravi M. M.: Voltammetric Determination of Triclosan in Waste Water and Personal Care Products, *International Journal of Electrochemical Science* **5**, 1390-1398 (2010).
- [55] Pemberton R. M.; Hart J. P.: Electrochemical behavior of triclosan at a screen-printed carbon electrode and its voltammetric determination in toothpaste and mouth rinse products, *Analytica Chimica Acta* **390**, 107-115 (1999).
- [56] Lu H.-H.; Tao G.-H.: Spectrophotometric determination of triclosan in personal care products, *Guangpu Shiyanshi* **26**, 487-490 (2009).
- [57] Malá P.: Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze, Praha (2012).