

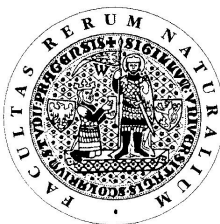
UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách



Petra Malá

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ TRICLOSANU NA UHLÍKOVÉ  
PASTOVÉ ELEKTRODĚ

Voltammetric determination of triclosan at carbon paste electrode

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Hana Dejmková

Praha 2012

Tato bakalářská práce byla finančně podporovaná Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy ČR (projekt MSM 0021620857), Univerzitou Karlovou v Praze (projekt SVV 2012-265201) a Technologicku agenturou ČR (projekt TA 01020565).

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto 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.

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

V Praze dne .....

.....  
podpis

Ráda bych poděkovala Mgr. Haně Dejmkové a prof. RNDr. Jiřímu Zimovi, CSc., za odborné vedení, cenné rady, připomínky a veškerou pomoc při vypracování mé bakalářské práce. Chtěla bych též poděkovat všem členům laboratoře č. 112 a katedry analytické chemie za pomoc a příjemné prostředí, které mi poskytovali v průběhu celé mé práce. Děkuji také své rodině za umožnění studia na vysoké škole a za podporu během celého studia.

**Klíčová slova:**

Diferenční pulzní voltametrie  
Uhlíková pastová elektroda  
Triclosan

**Keywords:**

Differential pulse voltammetry  
Carbon paste electrode  
Triclosan

## Abstrakt:

Bylo prostudováno voltametrické chování triclosanu na uhlíkové pastové elektrodě metodou diferenční pulzní voltametrie v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o různém pH a obsahu methanolu. Optimální pH Brittonova-Robinsonova pufru bylo stanoveno na pH 11. Množství methanolu ve vzorku nijak neovlivnilo stanovení. Akumulace na elektrodu zvýšila odezvu jen nevýrazně.

Za optimálních podmínek byla stanovena mez detekce v destilované vodě na  $1,2 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  a říční vodě na  $2,0 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  triclosanu.

Reálné vzorky byly proměřeny metodami diferenční pulzní voltametrie, vysokoúčinné kapalinové chromatografie se spektrofotometrickou detekcí v ultrafialové oblasti a spektrofotometricky. Tyto koncentrace byly porovnávány a byla posouzena použitelnost diferenční pulzní voltametrie na vzorky bez speciální předpřípravy. V některých případech tenzidy přítomné ve vzorcích znemožňovaly stanovení i v případě použití metody standardního přídatku.

## **Abstract:**

Differential pulse voltammetry was used to study the behaviour of triclosan at a carbon paste electrode. The influence of various pH values of Britton-Robinson buffer and various amounts of methanol was studied. Optimal found value of pH was pH 11 and there was no difference in voltammetric signal in the media with various amounts of added methanol. Accumulation on the electrode surface was negligible and did not result in significant triclosan signal increase.

The limit of detection of  $1,2 \cdot 10^{-7}$  mol dm<sup>-3</sup> and the limit of quantification of  $2,0 \cdot 10^{-7}$  mol dm<sup>-3</sup> triclosan were found.

Real samples were studied by differential pulse voltammetry, high-performance liquid chromatography and spectrophotometry. The results were compared and applicability of differential pulse voltammetry to real samples without special preparation step was evaluated. Surfactants present in samples obscured the voltammetric determination of triclosan in some samples even in case of the utilization of standard addition method.

# Obsah

<b>1. Teoretická část.....</b>	<b>9</b>
1.1 Cíl práce.....	9
1.2 Studovaná látka.....	9
1.3 Uhlíková pastová elektroda.....	11
<b>2. Experimentální část.....</b>	<b>12</b>
2.1 Použité chemikálie.....	12
2.2 Použité přístroje.....	12
2.2.1 Voltametrie.....	12
2.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	12
2.2.3 Spektrofotometr.....	12
2.2.4 pH metr.....	12
2.3 Pracovní postupy.....	13
2.3.1 Voltametrie.....	13
2.3.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	13
2.3.3 Spektrofotometrické měření.....	13
2.3.4 Příprava reálných vzorků.....	13
2.3.5 Zpracování výsledků.....	13
2.4 Spektrofotometrické měření stálosti.....	14
<b>3. Výsledky a diskuse.....</b>	<b>15</b>
3.1 Optimalizace metody stanovení triclosanu diferenční pulzní voltametrií.....	15
3.1.1 Vliv pH.....	15
3.1.2 Pasivace elektrody.....	17
3.1.3 Akumulace.....	17
3.1.4 Vliv množství methanolu.....	19
3.2 Kalibrační křivka.....	20
3.3 Voltametrické stanovení triclosanu v říční vodě.....	22
3.4 Voltametrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou standardního přídavku.....	24
3.5 Spektrofotometrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou HPLC-UV metodou standardního přídavku.....	27
3.6 Spektrofotometrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou standardního přídavku.....	30
3.6 Srovnání vzorků.....	33
<b>4. Závěr.....</b>	<b>34</b>
<b>5. Literatura.....</b>	<b>35</b>

## Seznam použitých zkratk:

$A$	absorbance [AU]
ACN	acetonitril
DPAdSV	diferenční pulzní adsorpční rozpouštěcí voltametrie (Differential Pulse Adsorptive Stripping Voltammetry)
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
$c$	koncentrace [M, mol·dm <sup>-3</sup> ]
CAS	Chemical Abstracts Service
CPE	uhlíková pastová elektroda (Carbon Paste Electrode)
$E$	potenciál [mV]
$E_{aku}$	potenciál akumulace [mV]
$E_p$	potenciál píku [mV]
DPV	diferenční pulzní voltametrie (Differential Pulse Voltammetry)
HMDE	visící rtuťová kapková elektroda (Hanging Mercury Drop Electrode)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography)
UV/VIS	spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti spektra
$I_p$	výška píku [nA]
$L$	linearita (směrnice závislosti dekadického logaritmu odezvy na dekadickém logaritmu koncentrace)
$L_{1,2}$	mez linearity (násobek rozptylu a tabelovaného koeficientu)
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MeOH	methanol
$\lambda$	vlnová délka [nm]
$n$	počet opakovaných měření
p.a.	pro analýzu
pH	záporný dekadický logaritmus koncentrace oxoniových iontů
$R^2$	koeficient determinace
$S$	plocha píku [mAU·s]
$\sigma$	směrodatná odchylka [mg]
$\sigma_o$	směrodatná odchylka odezvy [nA]
$\sigma_r$	relativní směrodatná odchylka
SPCE	tištěná uhlíková elektroda (Screen-Printed Carbon Electrode)
$t$	čas [min]
$t_{aku}$	čas akumulace [s]
TCN	triclosan
$\bar{x}$	střední hodnota obsahu analytu [mg]
$x_{DPV}$	střední hodnota obsahu analytu zjištěna metodou diferenční pulzní voltametrie [mg]
$x_{HPLC}$	střední hodnota obsahu analytu zjištěna metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie [mg]
$x_{SP}$	střední hodnota obsahu analytu zjištěna spektrofotometricky [mg]

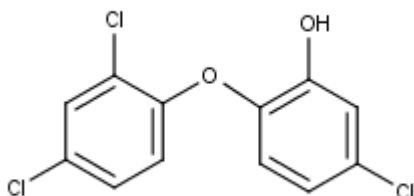


# 1. Teoretická část

## 1.1 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je studium chování triclosanu (5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenolu), látky používané v čistících a hygienických prostředcích jako antibiotické činidlo, vývoj metod pro její stanovení pomocí diferenční pulzní voltametrie (DPV) na uhlíkové pastové elektrodě a využití získaných poznatků pro stanovení triclosanu v reálných vzorcích.

## 1.2 Studovaná látka



Obr. 1

Strukturální vzorec triclosanu

CAS číslo: 3380-34-5

Sumární vzorec:  $C_{12}H_7Cl_3O_2$

Molární hmotnost: 289,545 g/mol

Bod tání: 329-331 K (56-58 °C) (cit. [1])

Rozpustnost v destilované vodě při 25 °C: 0,01g/1000g (cit. [2])

Tlak par:  $7 \cdot 10^{-4}$  Pa (cit. [2])

Disociační konstanta skupiny OH: 7,8 (cit. [3])

Rozdělovací koeficient oktanol/voda: 4,76 (cit. [4])

Další používaná jména: 5-chlor-2-(2,4-dichlorfenoxy)fenol, USEPA/OPP Pesticide Code: 05490, Aquasept, Gamophen, Irgasan DP 300, Sapoderm, Ster-Zac, Cloxifenol, TCPP.

Triclosan je polychlorovaný difenylether s alkoholovou skupinou. V pevném stavu je tato sloučenina ve formě bezbarvých jehliček s fenolovým zápachem, prakticky nerozpustných ve vodě, rozpustných v alkalických roztocích a některých organických rozpouštědlech. V roce 1969 byl registrován jako pesticid. V roce 2008 stanovila EPA (US Environmental Protection Agency) povolené koncentrace a limity užití [5].

Triclosan může být přítomen v krémech na ošetření citlivé pokožky, tonizačních vodách, tekutých mýdlech, tuhých deodorantech, zásypech a sprejích na nohy, aj. Maximální povolená koncentrace triclosanu v kosmetických prostředcích je 0,3 % [5, 6].

Do přírody se od spotřebitelů dostává odpadními vodami. Usazuje se a akumuluje ve vodních organismech. Vzhledem k výskytu methyltriclosanu se usuzuje na možnou náchylnost k biodegradaci [7]. Při fotolýze triclosanu v destilované vodě v laboratorních podmínkách byl stanoven poločas rozpadu při pH 8 a intenzitě záření poledního slunečního světla na 45° severní zeměpisné šířky na 5 hodin [8], v přírodě na 21 dní [9].

Toxicita triclosanu se studuje na zvířatech. Testy zkoumají zarudnutí pokožky po aplikaci 0,1 – 6% roztoku na pokožku různých druhů laboratorních zvířat. Při chronickém vystavení 0,5% roztoku nedocházelo k žádnému podráždění kůže ani k systémovým toxickým účinkům [2]. Proniknutí triclosanu pokožkou je zkoumáno na myších [10] a krysách [11]. Nebyly zjištěny žádné toxické účinky, přibírání či úbytek na váze, ovlivnění plodnosti ani změny doby líhnutí či rození při chronickém podávání triclosanu vybraným druhům červů, psů, krys, ryb, dafnií a pavíánů [2, 7].

Další studie se věnuje přirozené akumulaci triclosanu, zejména v lidském mateřském mléce, při jejímž řešení bylo nalezeno v odebraných vzorcích stopové množství (20-300  $\mu\text{m}/\text{kg}$  tuku), což je více než v mléce kravském (<20  $\mu\text{m}/\text{kg}$  tuku) [12].

U člověka byla alergie zpozorována pouze u 2 případů [13]. Karcinogenita zatím nebyla prokázána [12]. Přes opakované studie nebyl prokázán zvýšený účinek zubní pasty s triclosanem na množství zubního plaku [14], avšak snižuje krvácivost dásní [15].

Byly vyvinuty různé metody stanovení triclosanu. Mezi nejrozšířenější metody stanovení triclosanu patří vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (HPLC-MS) [16] a nebo s detekcí v ultrafialové oblasti (HPLC-UV) [17]. Po nich přichází na řadu voltametrické stanovení v zásadité nebo neutrální oblasti [18] a kapilární elektroforéza [19].

Voltametrická stanovení jsou citlivá, poměrně rychlá a levnější než chromatografická. Elektrochemická oxidace triclosanu byla studována na borem dopované filmové diamantové elektrodě [20] a na skelné uhlíkové a diamantové elektrodě s mikrovláknou aktivací [21]. Mnohé další studie se zabývají různými elektrodami a možnostmi zvýšení citlivosti pomocí nanočástic [18, 22].

Další studie se zabývaly různými matricemi. Pro stanovení zubní pasty a ústní vody byla zvolena SPCE [18], HMDE pro zubní pastu a odpadní vodu [23]. Problematika stanovení triclosanu v tenzidech je zkoumána v práci se skelnou uhlíkovou elektrodou a řešení přídavkem hydrotropní látky p-toluensulfonátu sodného (STS) [24] a stanovení čtyř desinfekčních činidel v jednom vzorku metodou DPV na skelné uhlíkové elektrodě [25].

**Tab. 1.1** Srovnání meze detekce a stanovitelnosti triclosanu vybranými analytickými metodami.

Metoda stanovení triclosanu	<i>LOD</i> $\text{mol dm}^{-3}$	zdroj
HPLC-MS s gradientovou elucí	$2,6 \cdot 10^{-11}$	[26]
UPLC-PDA s gradientovou elucí	$6,7 \cdot 10^{-11}$	[27]
DPAdSV na HMDE v BR pufru o pH=7	$6,4 \cdot 10^{-9}$	[23]
Amperometrický sensor s MIP filmem	$8,0 \cdot 10^{-8}$	[28]
Akumulace na CNP-PDDAC filmu ve fosfátovém pufru o pH 9,5	$1,7 \cdot 10^{-7}$	[29]
DPV na GCE v BR pufru o pH=9,9	$7,4 \cdot 10^{-6}$	[25]
DPV na SPCE v diethanolaminu o pH 10	$1,2 \cdot 10^{-6}$	[18]
HPLC-UV s mobilní fází ACN-fosfátový pufr 70 mM o pH 3,5	$6,7 \cdot 10^{-6}$	[16]

### 1.3 Uhlíková pastová elektroda

Uhlíková pastová elektroda (CPE) byla vynalezena R. N. Adamsem v roce 1958 [30], který zjistil, že vhodný materiál pro elektrodu se zajímavými elektrochemickými vlastnostmi je hustší směs práškového uhlíku s minerálním nebo silikonovým olejem. Při realizaci elektrody se touto pastou naplní elektrodové tělo. Pastu nelze použít ihned po přípravě. Mnohdy je třeba čekat, řádově hodiny, než se pasta samovolně ustálí. Bývá uchovávána v igelitových pytlících či těsnících nádobkách, aby bylo zabráněno jejímu vysoušení.

Mezi kladné vlastnosti CPE patří jednoduchá modifikovatelnost [31]. Můžeme použít nejen grafit, ale též různé modifikace uhlíku. Takovými modifikacemi mohou být nanotrubičky, mikrokuličky skelného uhlíku a jiné materiály. Další možností, jak modifikovat CPE, je přidat k uhlíkovému prášku třetí složku, která změní chemické vlastnosti pasty. Mohou to být například zeolity nebo nanočástice. Další pozitivum této elektrody spočívá v širokém potenciálovém okně  $-1,3$  až  $+1,4$  V [32] a přítomnost pastovací kapaliny snižující hodnoty zbytkových proudů [33].

Naopak mezi negativa patří naadsorbovaný kyslík v pastě, který působí rušivě v oblasti katodických potenciálů a omezená reprodukovatelnost otírání, daná definovaným povrchem uhlíkové pasty, způsobem otěru a nízkou mechanickou odolností elektrodového těla. Nižší stabilita pasty ve vzorcích organického rozpouštědla lze řešit použitím mikrokuliček skelného uhlíku namísto uhlíku práškového. CPE lze použít i jako detektor pro průtokové metody [34].

## 2. Experimentální část

### 2.1 Použité chemikálie

Studovaná látka: Irgasan  $\geq 97,0$  % (HPLC) Sigma-Aldrich, USA

Zásobní roztoky triclosanu byly připraveny odvážením přesného množství látky na analytických vahách a rozpuštěním v methanolu (p.a., Merck, Německo) v odměrné baňce a byly uchovávány potmě za laboratorní teploty. Měření UV/VIS spektra prokázalo stálost látky za těchto podmínek uchovávání.

BR pufrů o příslušném pH byly připravovány mísením zásadité a kyselé složky do dosažení požadovaného pH, jehož hodnota byla měřena pH metrem. *Kyselá složka pufru* obsahovala kyselinu boritou (p.a., Lachema Brno, ČR), kyselinu fosforečnou (85%, p.a., Lachema Brno, ČR) a kyselinu octovou (98%, p.a., Lach-Ner Neratovice, ČR), každou o koncentraci  $0,04 \cdot \text{mol dm}^{-3}$ . *Zásaditá složka pufru* je  $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$  roztok hydroxidu sodného (p.a., Lach-Ner Neratovice, ČR).

Fosfátový pufr byl připraven z  $0,07 \text{ mol dm}^{-3}$  roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného (p.a., Lachema, ČR), jehož pH bylo upraveno na pH 3,5 kyselinou fosforečnou.

Uhlíková pasta byla vytvořena smísením 0,5 g mikrokuliček skelného uhlíku o průměru  $0,4 - 12 \mu\text{m}$  (Alpha Aesar, USA) a 200  $\mu\text{l}$  minerálního oleje (Fluka Biochemika, Švýcarsko).

Reálné vzorky kosmetických přípravků byly: tuhý deodorant Playboy New York (Coty, Francie), zubní pasta Colgate Total Advanced Fresh (Colgate-Palmolive, USA), desinfekční mýdlo Profiline Herbavera (3K s.r.o., ČR) a mýdlo určené pro intimní hygienu Chilly intima – delicate formula, (L. Manetti – H. Roberts & C.p.A., Itálie).

### 2.2 Použité přístroje

#### 2.2.1 Voltametrie

Sestava: Eco-Tribo-polarograf se softwarem Polar Pro v.4 (Polarosensors, ČR)

Elektrody:

pracovní elektroda: CPE v teflonovém těle s kruhovou aktivní plochou o průměru 2 mm

referentní elektroda: argentochloridová,  $3 \text{ mol dm}^{-3}$  chlorid draselný

pomocná elektroda: platinová plíšková elektroda

#### 2.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Pumpa: High pressure pump 5001, Laboratorní přístroje Praha

Dávkovač: Sample injector D se smyčkou 20  $\mu\text{l}$ , Ecom

Předkolonka: LiChroCART® 4-4 Purospher® RP-18 (5  $\mu\text{m}$ ), Merck, Německo

Kolona: LiChroCART® 125-4 Superspher® 100 RP18, Merck, Německo

Detektor: Sapphire 800, Ecom, ČR

Program: Clarity version 2.4.1.87 DataApex

#### 2.2.3 Spektrofotometr

Agilent 8453, Agilent Technologies, USA

#### 2.2.4 pH metr

pH meter 3510 (Jenway, UK) s kombinovanou skleněnou elektrodou (Jenway, UK)

## 2.3 Pracovní postupy

### 2.3.1 Voltametrie

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty. Při voltametrických měřeních byl vždy připravován objem vzorku 10 ml a měření opakováno třikrát. Do výpočtů a grafů byl udáván jejich průměr. Použité parametry DPV techniky byly rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , šířka pulzu 100 ms a výška pulzu 50 mV.

Roztoky o požadované koncentraci byly připraveny ze zásobního methanolického roztoku triclosanu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , přidáním potřebného množství methanolu a doplněním do požadovaného objemu BR pufrům o daném pH.

### 2.3.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Mobilní fáze byla připravena smísením ACN a fosfátového pufru o koncentraci  $70 \text{ mmol dm}^{-3}$  a pH 3,5 (55:45, V/V).

K detekci byla využita spektrofotometrická detekce při 280 nm. Průtok mobilní fáze byl  $1 \text{ ml min}^{-1}$ . Dávkováno bylo 20  $\mu\text{l}$  roztoku a standardní přídavky činily 100  $\mu\text{l}$  standardního roztoku koncentrace  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu do 5 ml. Podmínky měření byly převzaty a upraveny z [23].

### 2.3.3 Spektrofotometrické měření

Měření reálných vzorků triclosanu bylo prováděno v 10 mm křemenné kyvetě, do které bylo napipetováno 3 ml vzorku a postupně přidáván standardní přídavek 30  $\mu\text{l}$  o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu a prováděna měření v rozmezí vlnových délek 200 až 800 nm.

### 2.3.4 Příprava reálných vzorků

Při přípravě říční vzorku o koncentraci  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu bylo odpipetováno 0,25 ml methanolického roztoku triclosanu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-2} \text{ mol dm}^{-3}$  do 250 ml baňky a doplněn říční přefiltrovanou vodou, nabranou ve Vltavě na Výtoni (21. 2. 2012). Pro měření bylo 5 ml vodného roztoku o požadované koncentraci triclosanu doplněno do 10 ml RB pufrům o pH 11. Uváděné hodnoty koncentrací se vztahují ke vzorku říční vody před zředěním pufrům.

Pro voltametrické stanovení v kosmetických přípravcích byly vzorky připraveny rozpuštěním přibližně přesně 0,1000 g výrobku v 10 ml methanolu a sonifikovány. Vzorky pro spektrofotometrii byly navíc filtrovány přes stříkačkový filtr (ProFill Plus PTFE 0,45  $\mu\text{m}$ , Fisher Scientific).

Při přípravě vzorků pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii byl methanol nahrazen mobilní fází a po sonifikaci a zchlazení na  $0 \text{ }^\circ\text{C}$  byly vzorky filtrovány přes stříkačkový filtr.

### 2.3.5 Zpracování výsledků

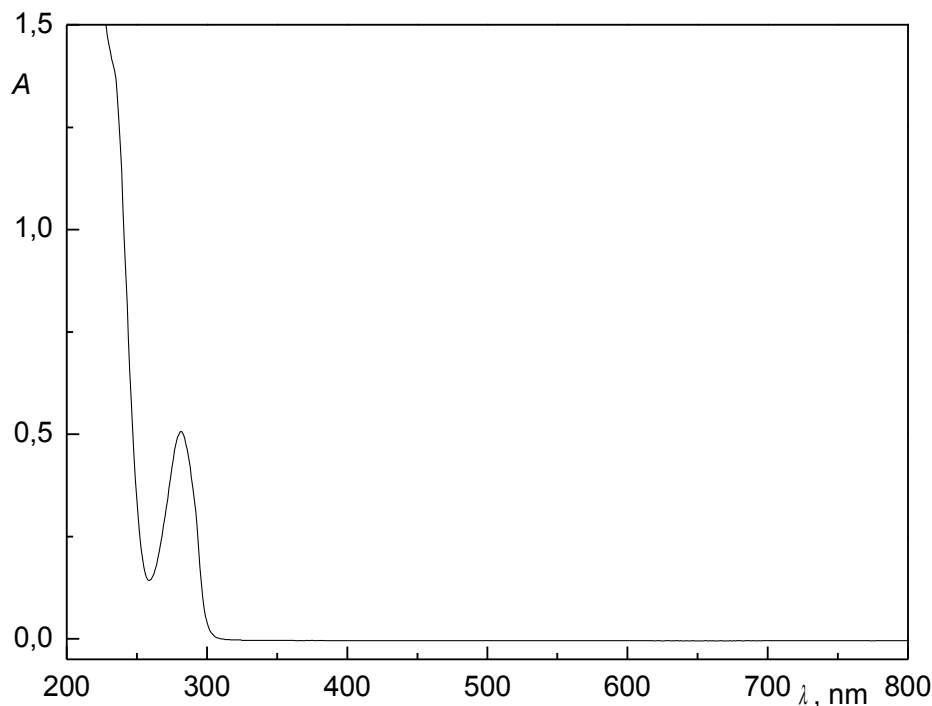
Mez detekce byla spočtena jako trojnásobek směrodatné odchylky odezvy přepočtené na koncentraci dělením danou směrnici z kalibrační přímky. Mez stanovitelnosti byla určena jako desetinásobek směrodatné odchylky odezvy přepočtené na koncentraci.

Jako míra linearity závislosti byla použita směrnice závislosti dekadického logaritmu odezvy na dekadickém logaritmu koncentrace.

## 2.4 Spektrofotometrické měření stálosti

Stálost zásobního roztoku byla sledována spektrofotometricky.

Absorpční spektrum bylo proměřováno v zásobním methanolicím roztoku, jehož koncentrace byla  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu, proti methanolu v křemenných kyvetách tloušťky 1,01 mm v rozmezí vlnových délek 200 až 800 nm (Obr. 2. 1). Absorpční maximum triclosanu má hodnotu 280 nm. Pokud by se látka rozkládala, tento pás by měnil svoji velikost nebo se objevovaly jiné pásy jinde. Z opakovaného měření po delším časovém úseku vyplývá, že triclosan, skladovaný za laboratorní teploty a temnu, je stálý (Tab. 2.1).



**Obr. 2.1** Ultrafialové a viditelné spektrum zásobního roztoku triclosanu  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  v methanolu měřeno v křemenných kyvetách tloušťky 1,01 mm v rozmezí vlnových délek 200 až 800 nm.

**Tab. 2.1** Stálost zásobního roztoku triclosanu  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  v methanolu.

<i>t</i> dny	$\lambda$ 282 nm	
	<i>A</i>	%
0	0,510	100,0
2	0,506	98,96
8	0,501	97,99
15	0,500	100,0
29	0,522	102,2
154	0,521	101,8

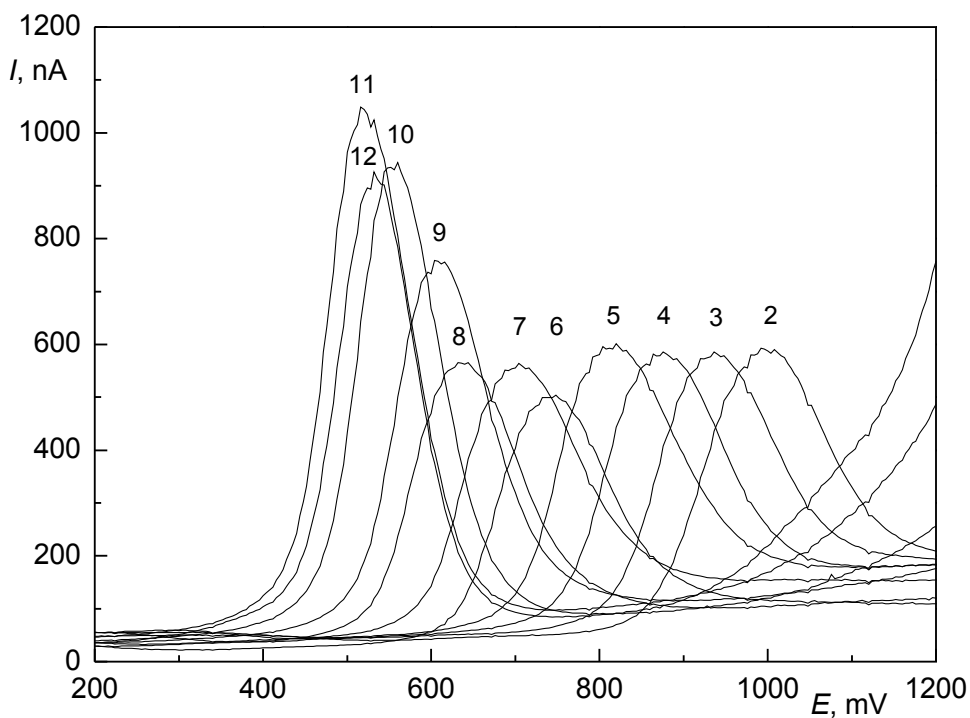
### 3. Výsledky a diskuse

#### 3.1 Optimalizace metody stanovení triclosanu diferenční pulzní voltametrií

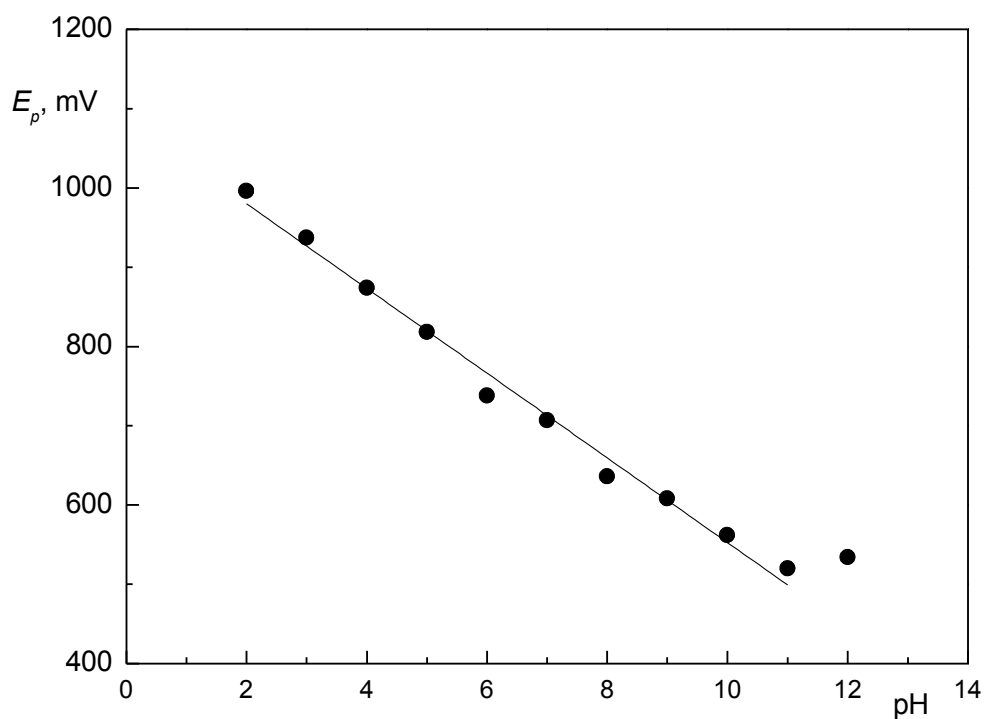
##### 3.1.1 Vliv pH

Důležitou roli při měření hraje hodnota pH. Velikost odezvy elektrody se může v různém prostředí značně lišit, je tedy důležité zvolit pH, při kterém je odezva přístroje největší a tedy kalibrační závislost nejstrmější. Byla provedena série měření, při kterém měl BR pufr různé hodnoty pH, od pH 2 po pH 12. Prostředí 10 % obj. methanolu zajišťovalo rozpustnost triclosanu v celé škále.

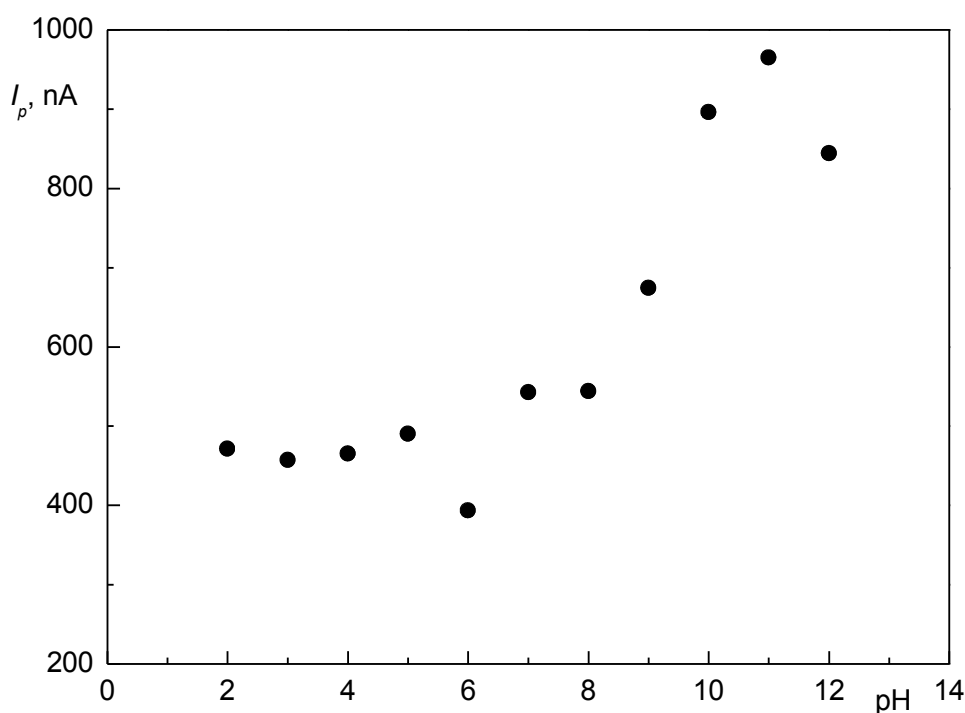
Triclosan poskytuje v celé škále pH jeden pík (Obr. 3.1), jehož potenciál se se snižujícím pH posouvá k vyšším hodnotám podle závislosti  $E[\text{mV}] = -53,4 \cdot \text{pH} + 1087$  ( $R^2 = 0,9892$ ). (Obr. 3. 2). Odezva se zvyšuje od pH 8 vlivem disociace látky, výška píku je nejvyšší při pH 11 (Obr. 3.3). Toto pH bylo zvoleno jako optimální a bylo použito při dalších měřeních.



**Obr. 3.1** Anodické DP voltamogramy triclosanu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$  měřené na CPE v prostředí BR pufru o pH 2 (2) až pH 12 (12) a methanolu (9:1, V/V). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.2** Závislost potenciálu píků na pH BR pufru a methanolu (9:1, V/V). Koncentrace triclosanu  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . Měřeno na CPE metodou DPV, rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

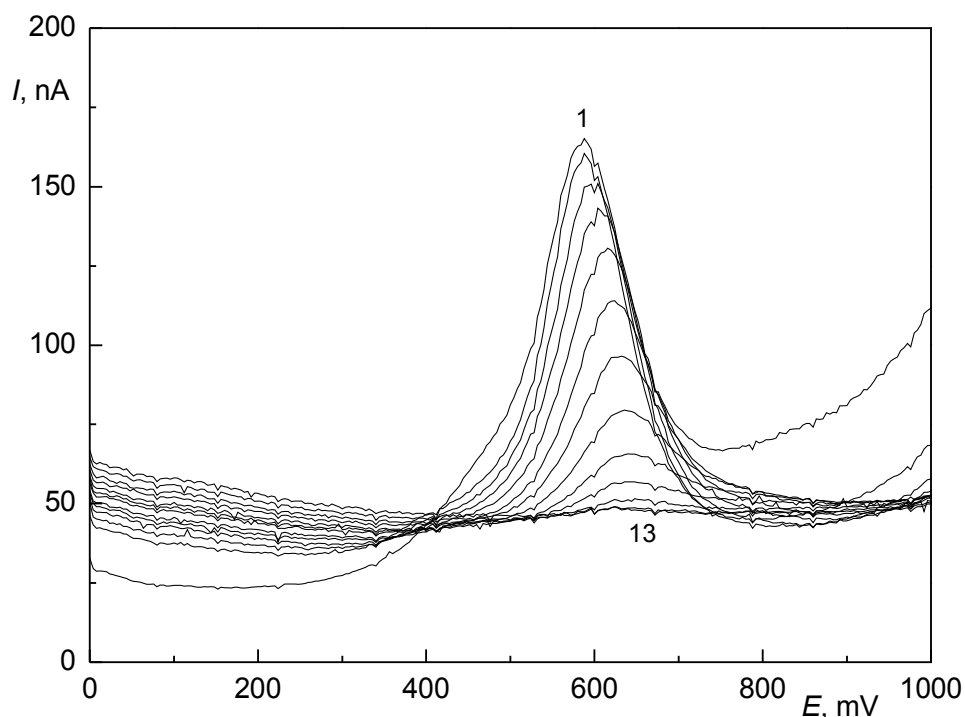


**Obr. 3.3** Závislost výšky píků triclosanu na pH BR pufru s obsahem methanolu (9:1, V/V). Koncentrace triclosanu  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ . Měřeno na CPE metodou DPV, rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



### 3.1.2 Pasivace elektrody

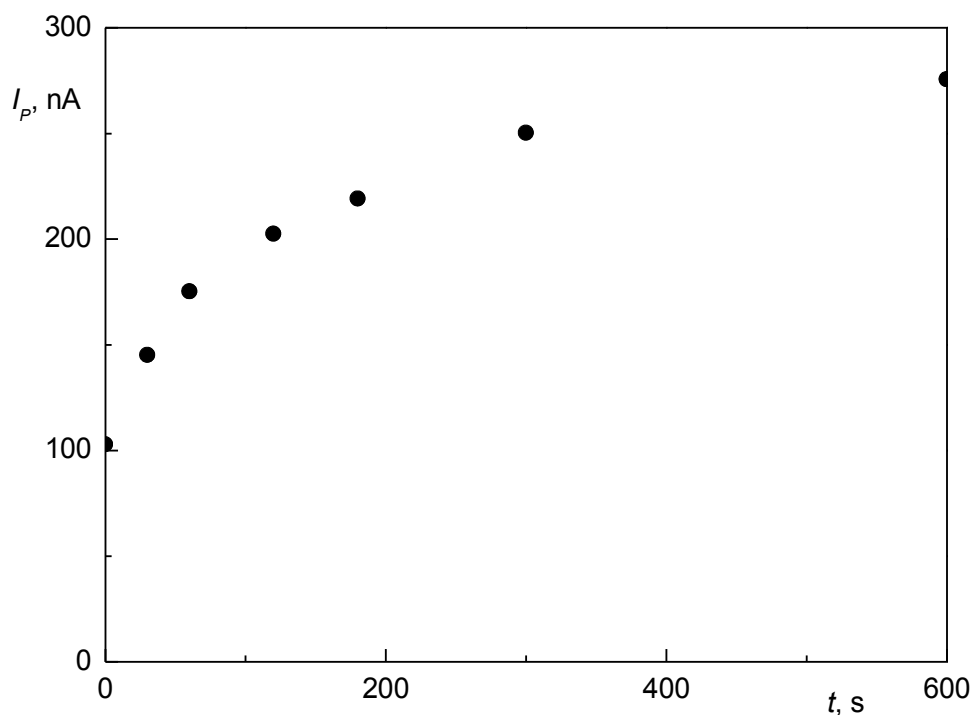
Dále bylo třeba ověřit, zda nedochází k pasivaci elektrody. Pokud k ní dochází, je třeba povrch elektrody mechanicky obnovovat po každé naměřené křivce. Při opakovaném měření bez otírání bylo zjištěno, že k pasivaci elektrody dochází (Obr. 3.4), je dokonce natolik silná, že během třinácti měření pík triclosanu téměř zcela vymizí.



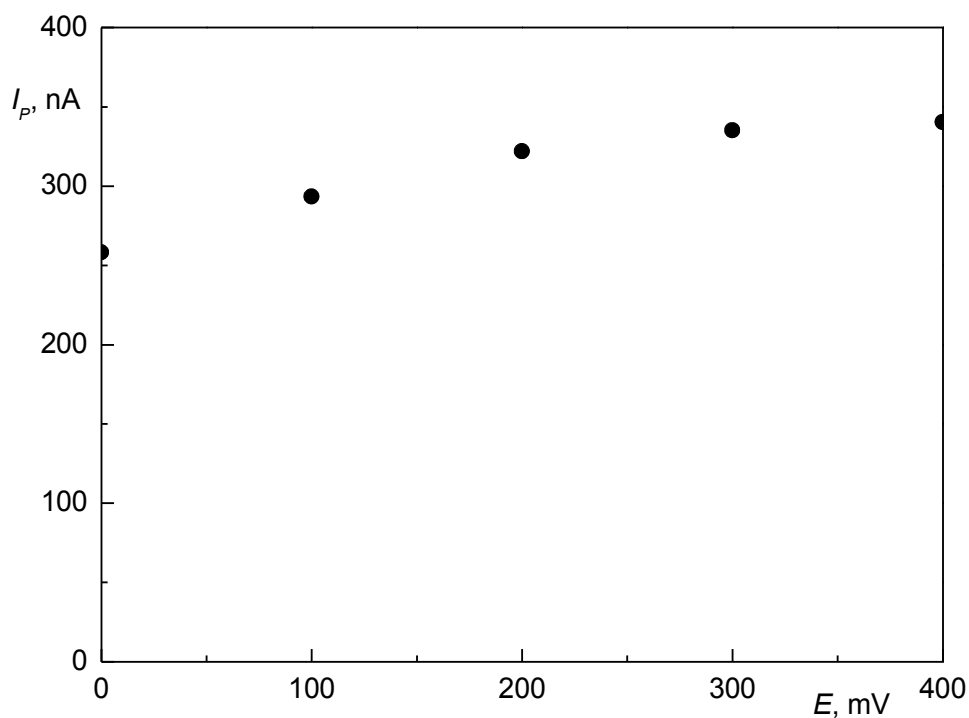
**Obr 3.4** Anodické DP voltamogramy  $1 \cdot 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  triclosanu měřené na CPE v prostředí BR pufru o pH 10 a methanolu (9:1, V/V), bez otírání elektrody. Číslo křivky odpovídá pořadí měření. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.1.3 Akumulace

Akumulací látky na povrchu elektrody lze zvýšit citlivost měření. Lze ji akumulovat v míchaném roztoku bez vloženého potenciálu nebo s procházejícím proudem. Ke zkoumání akumulačních podmínek byl připraven roztok triclosanu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ , který obsahoval 1 ml methanolu a byl doplněn BR pufrům o pH 11. Nejprve byla studována velikost signálu v závislosti na akumulačním čase (Obr. 3.5), poté byl zvolen čas 5 minut a bylo měněno akumulační napětí (Obr. 3.6). Při desetiminutové akumulaci stoupla odezva jen 2,5-krát, akumulační potenciál ovlivnil výšku odezvy též nevýrazně, proto byla další měření prováděna bez akumulačního kroku.



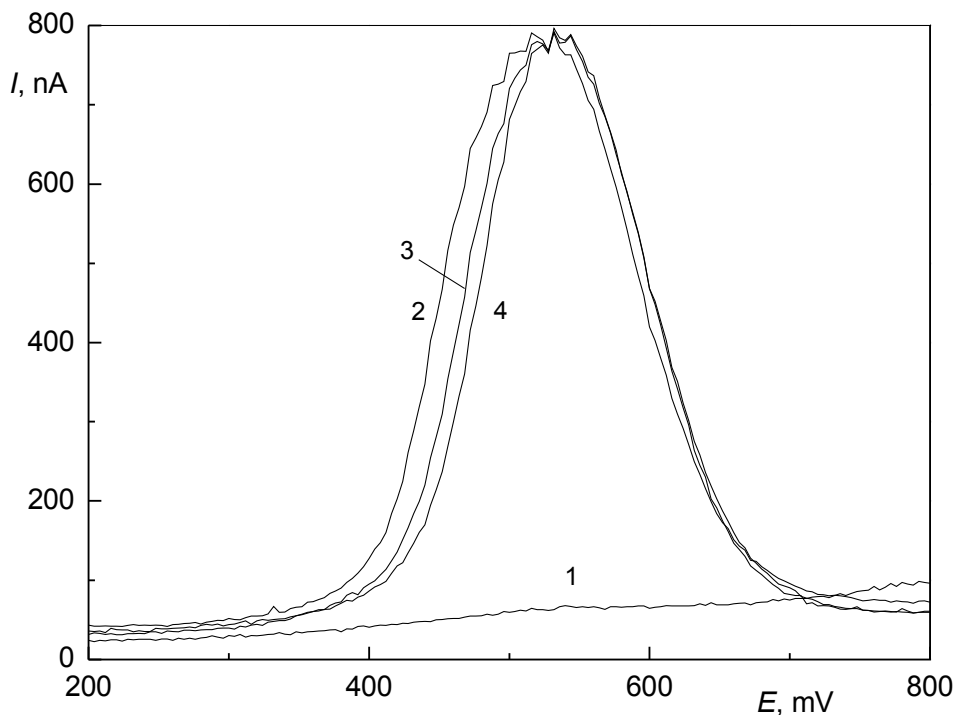
**Obr. 3.5** Závislost výšky píku triclosanu na době akumulace. Koncentrace triclosanu  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ , měřeno metodou DPV na CPE v prostředí BR pufru o pH 11 a methanolu (9:1, V/V). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.6** Srovnání velikosti píku triclosanu na různém potenciálu akumulace. Koncentrace  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu v prostředí BR pufru o pH 11 a methanolu (9:1, V/V). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.1.4 Vliv množství methanolu

S ohledem na nízkou rozpustnost triclosanu ve vodě se při stanovení v reálných vzorcích dá předpokládat použití methanolu jako rozpouštědla či extrakčního činidla. Proto byl ověřen vliv množství methanolu přítomného v roztoku na odezvu elektrody. Množství methanolu ve stanovovaném roztoku nemělo vliv na voltamogram triclosanu v rozmezí 0 – 50 % obj., protože průběhy voltametrických křivek jsou téměř totožné (Obr. 3.7), a proto nezáleží na jeho přidaném množství ve vzorku.

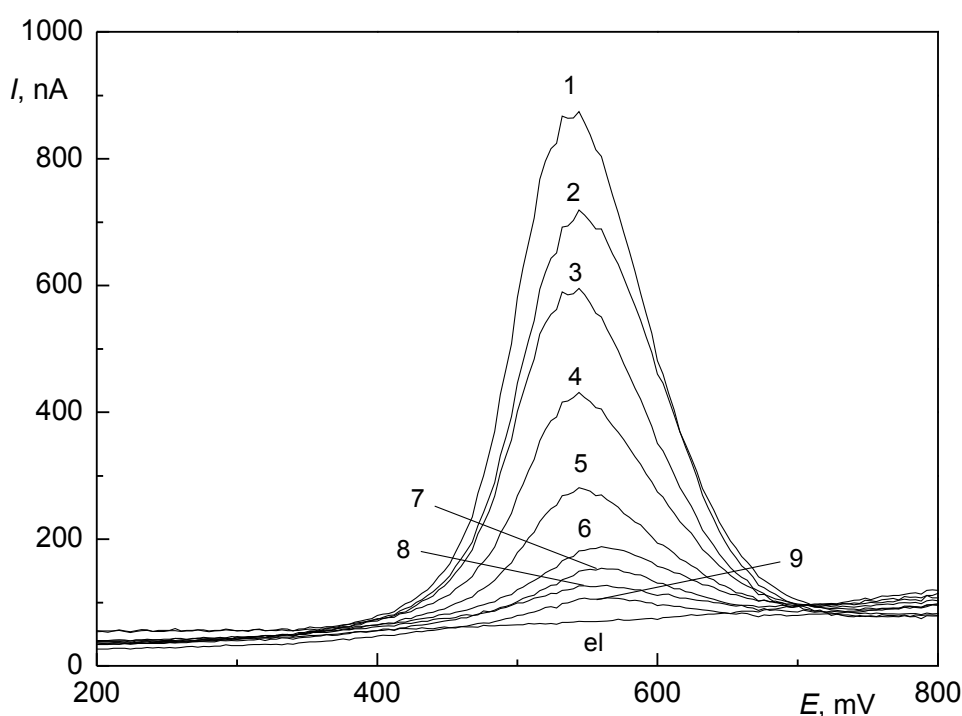


**Obr. 3.7** Anodické DP voltamogramy  $1 \cdot 10^{-4}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  triclosanu měřené na CPE v prostředí BR pufru o pH 10 a methanolu (9:1, V/V). Křivka (1) znázorňuje indiferentní pufr, (2) triclosan s 10 % obj. methanolu, (3) triclosan bez methanolu a (4) triclosan s 50 % obj. methanolu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

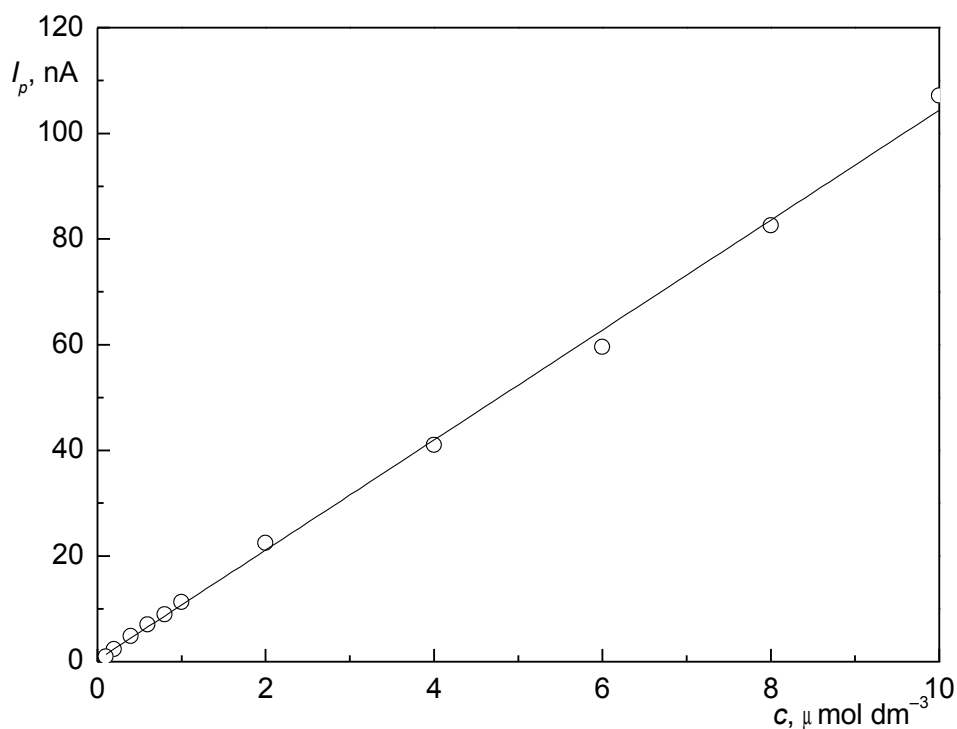
### 3.2 Kalibrační křivka

Po zjištění optimálních podmínek stanovení, prostředí BR pufru o pH 11, bez akumulace, je třeba ověřit linearitu závislosti odezvy na koncentraci. Pro změření koncentrační závislosti byla připravena koncentrační řada roztoků obsahující 10% obj. methanolu, doplněna BR pufrům o pH 11 a proměřena od koncentrace  $1 \cdot 10^{-4}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  k nejnižší možné detekovatelné koncentraci. Parametry získané kalibrační přímkou jsou uvedeny v Tab. 3.1, vybrané voltametrické křivky jsou ukázány na Obr. 3.8 a úsek koncentrační přímkou v nejnižším měřeném koncentračním rozsahu na Obr. 3.9. Úsek koncentrační závislosti je zanedbatelný a koeficient determinace potvrzuje linearitu závislosti.

Meze detekce a stanovitelnosti nesou důležitou informaci o citlivosti dané metody. Tyto meze byly zkoumány na roztoku triclosanu o koncentraci  $6 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru o pH 11 a 10% obj. methanolu.



**Obr. 3.8** Vybrané anodické DP voltamogramy triclosanu měřené na CPE v prostředí BR pufru o pH 11 a methanolu (9:1, V/V). Koncentrace triclosanu  $1 \cdot 10^{-4}$  (1),  $8 \cdot 10^{-5}$  (2),  $6 \cdot 10^{-5}$  (3),  $4 \cdot 10^{-5}$  (4),  $2 \cdot 10^{-5}$  (5),  $1 \cdot 10^{-5}$  (16),  $8 \cdot 10^{-5}$  (7),  $6 \cdot 10^{-5}$  (8),  $4 \cdot 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  (9) a základní elektrolyt (el). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



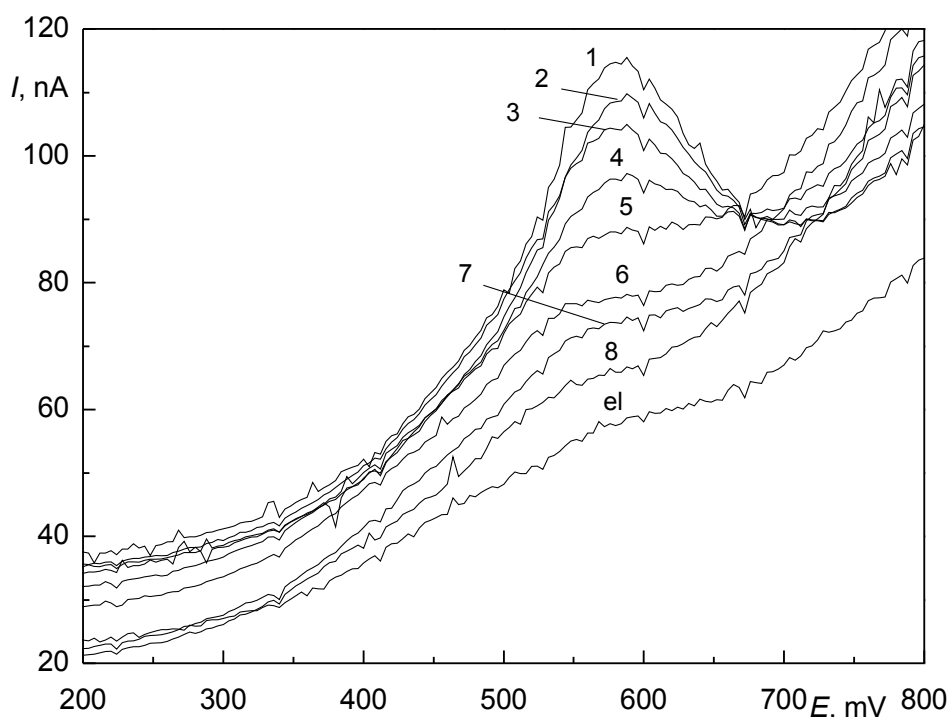
**Obr. 3.9** Kalibrační křivka triclosanu měřena metodou DPV v prostředí methanolu a BR pufru o pH 11 (1:9, V/V). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu  $50 \text{ mV}$ , šířka pulzu  $100 \text{ ms}$ .

**Tab. 3.1** Parametry kalibrační závislosti triclosanu, měřeno metodou anodické DP voltametrie na CPE v prostředí methanolu a BR pufru o pH 11 v poměru (1:9, V/V), linearita, hodnota směrodatné odchylky odezvy z opakovaného měření, limit detekce a limit stanovitelnosti.

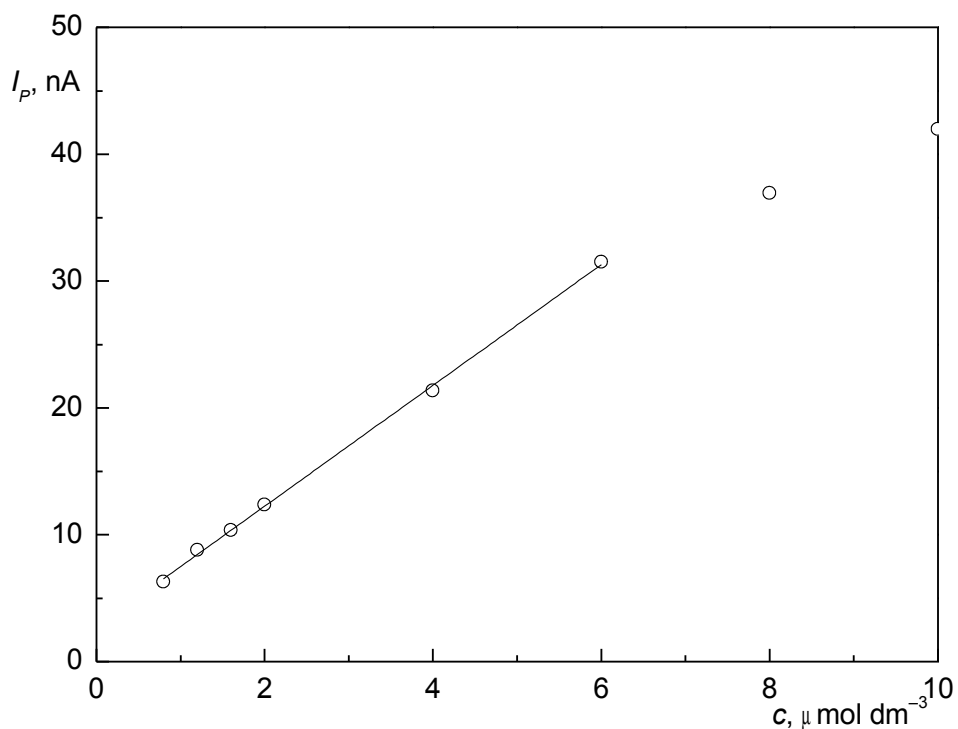
$c$ $\text{mol dm}^{-3}$	úsek nA	směrnice $\text{nA } \mu\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3$	$R^2$	$L$	$\sigma_o$ nA	$LOD$ $\text{mol dm}^{-3}$	$LOQ$ $\text{mol dm}^{-3}$
$1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-4}$	0,32	10,4	0,9981	0,990	0,432	$1,2 \cdot 10^{-7}$	$4,1 \cdot 10^{-7}$

### 3.3 Voltametrické stanovení triclosanu v říční vodě

Ze zásobního roztoku modelového vzorku říční vody o koncentraci triclosanu  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  byly nachystány kalibrační roztoky a proměřeny voltamogramy v prostředí BR pufru o pH 11. Parametry získané kalibrační přímkou jsou uvedeny v Tab. 3.2, voltametrické křivky jsou ukázány na Obr. 3.10 a odpovídající kalibrační křivka koncentračním rozsahu na Obr. 3.11. Směrnice přímkou koncentrační závislosti triclosanu v říční vodě je, s ohledem na ředění vzorku, velmi blízká směrnici přímkou koncentrační závislosti této látky v čistých rozpouštědlech. Ve srovnání s tímto měřením má ale kalibrační křivka malý lineární rozsah; na Obr. 3.11 jsou vidět dva body neležící na přímce, které mohou být způsobené interakcí analytu s matricí říční vody.



**Obr. 3.10** Anodické DP voltamogramy triclosanu měřené na CPE v prostředí BR pufru o pH 11 s říční vodou (1:1, V/V). Koncentrace triclosanu ve vzorku  $1 \cdot 10^{-5}$  (1),  $8 \cdot 10^{-6}$  (2)  $6 \cdot 10^{-6}$  (3),  $4 \cdot 10^{-6}$  (4),  $2 \cdot 10^{-6}$  (5),  $1,6 \cdot 10^{-6}$  (6),  $1,2 \cdot 10^{-6}$  (7),  $8 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  (8) a základní elektrolyt (el). Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu  $50 \text{ mV}$ , šířka pulzu  $100 \text{ ms}$ .



**Obr. 3.11** Závislost výšky píku na koncentraci triclosanu v říční vodě a BR pufru o pH 11 (1:1, V/V) po naředění. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

**Tab. 3.2** Parametry kalibrační závislosti triclosanu, měřeno metodou anodické DP voltametrie na CPE v prostředí methanolu a BR pufru o pH 11 v poměru (1:9, V/V), linearita, hodnota směrodatné odchylky odezvy z opakovaného měření, limit detekce a limit stanovitelnosti.

$c$ $\text{mol dm}^{-3}$	úsek nA	směrnice $\text{nA } \mu\text{mol}^{-1} \text{ dm}^3$	$R^2$	$L$	$\sigma_o$ nA	$LOD$ $\text{mol dm}^{-3}$	$LOQ$ $\text{mol dm}^{-3}$
$1 \cdot 10^{-5} - 8 \cdot 10^{-7}$	2,72	4,8	0,9988	1,400	0,308	$2,0 \cdot 10^{-7}$	$6,4 \cdot 10^{-7}$

### 3.4 Voltametrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou standardního přídávku

Jako reálné vzorky byl zvolen tuhý deodorant, zubní pasta, desinfekční mýdlo a mýdlo určené na intimní hygienu. Po odvážení, rozpuštění v methanolu a sonifikaci proběhlo měření v požadovaném prostředí. Vzorek tuhého deodorantu, rozpuštěný v methanolu po přidání BR pufru o pH 11 (1:1, V/V), vytvořil řídký gel. U vzorku pasty zůstala v roztoku nerozpustná složka. Vzorky mýdel zůstaly čiré.

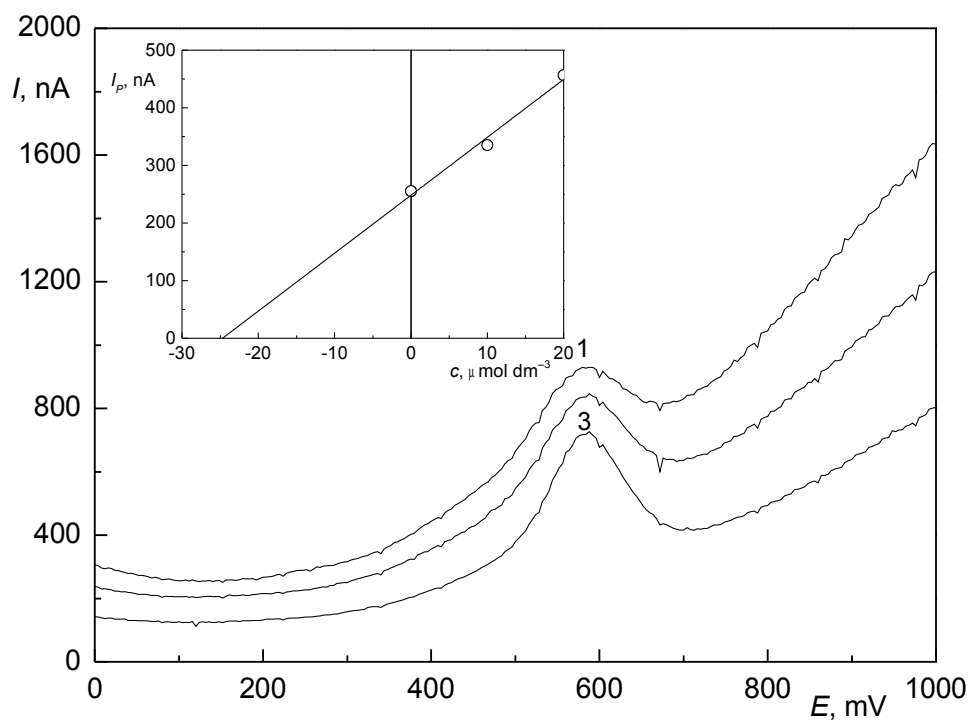
Po proměření bylo do voltametrické nádoby přidáno 100  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$  a provedeno měření. Standardní přídavek byl přidán dvakrát pro zvýšení přesnosti výsledků.

V tabulce (Tab. 3.3) jsou vyhodnoceny anodické DP voltamogramy vzorků tuhého deodorantu (Obr. 3.12), zubní pasty (Obr. 3.13), desinfekčního mýdla (Obr. 3.14) a mýdla určeného k intimní hygieně (Obr. 3.15). Měření vykazuje u některých vzorků značný rozptyl způsobený maticí.

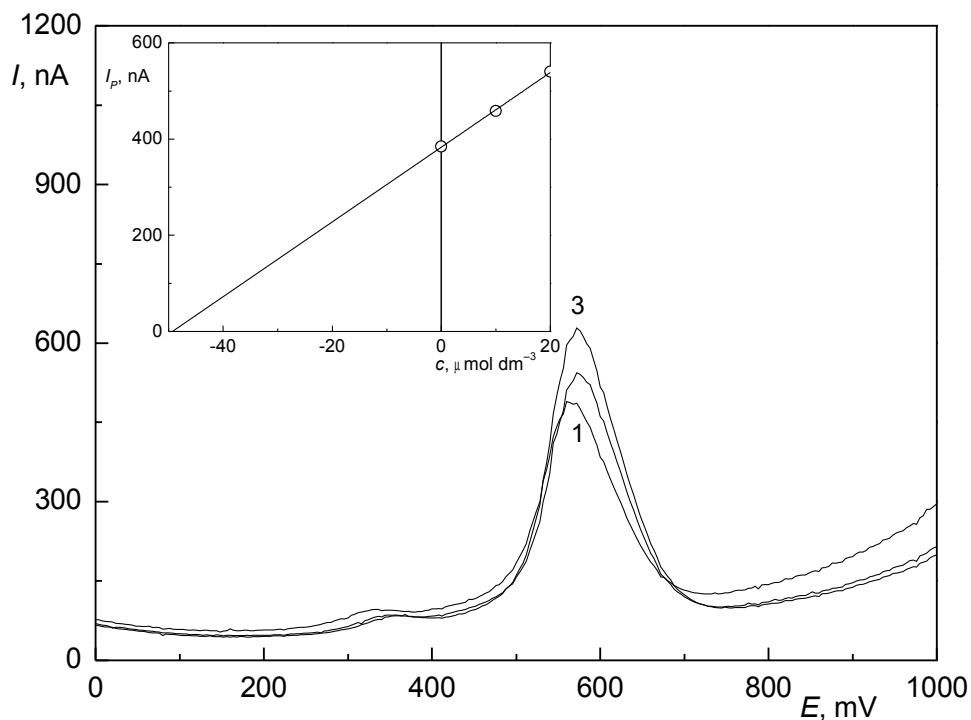
**Tab. 3.3** Vypočtený průměrný obsah triclosanu v reálných vzorcích z naměřených DP voltamogramů vztažených na 100 g výrobku, interval spolehlivosti, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka. Počet měření  $n=3$ .

vzorek	$x_{\text{DPV}}$ mg	$L_{1,2}$ mg	$\sigma$ mg	$\sigma_r$
tuhý deodorant	142	11	5	0,04
zubní pasta	282	46	43	0,07
desinfekční mýdlo	212	72	60	0,28
mýdlo určené k intimní hygieně	42	22	8	0,24

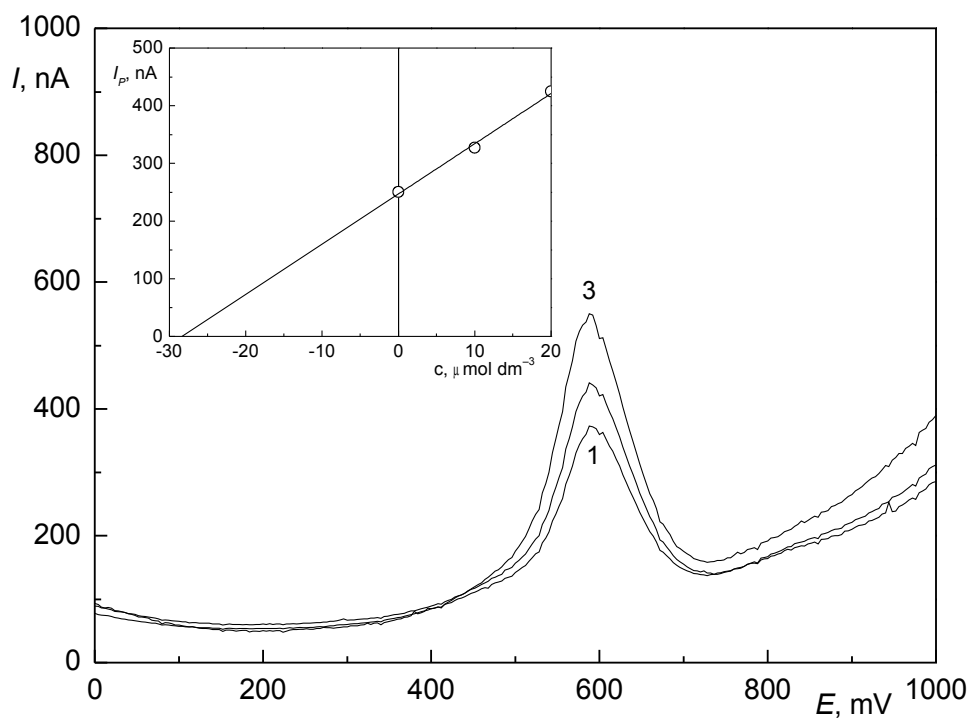




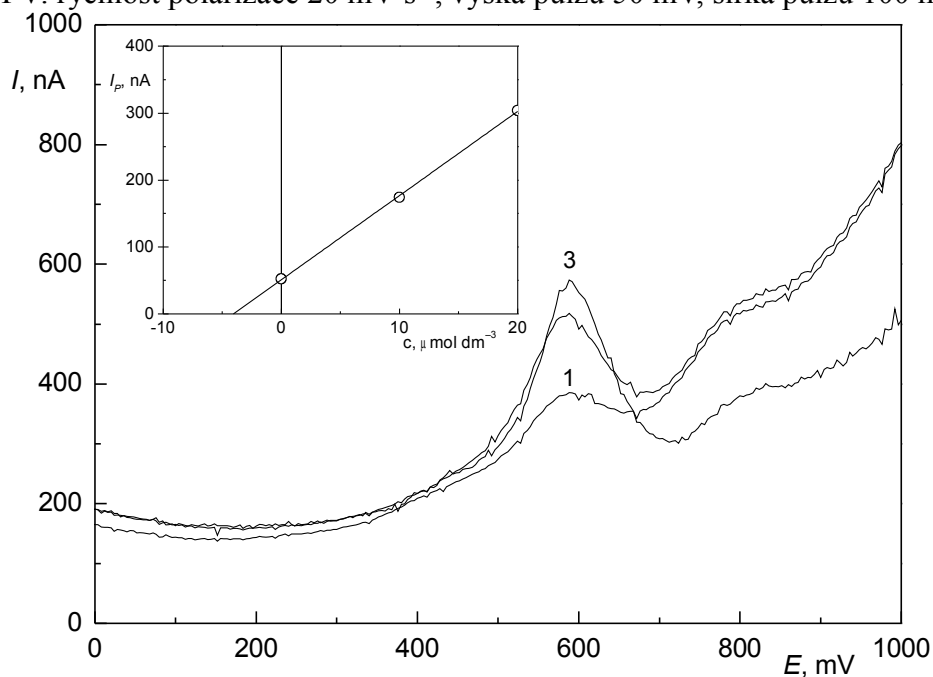
**Obr. 3.13** DP voltamogramy tuhého deodorantu rozpuštěného v methanolu a BR pufru o pH 11 (1:1, V/V). Ve vloženém grafu závislost výšky píku na koncentraci triclosanu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.14** DP voltamogramy zubní pasty rozpuštěné v methanolu a BR pufru o pH 11 v poměru (1:1, V/V). Ve vloženém grafu závislost výšky píku na koncentraci triclosanu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.15** DP voltamogramy desinfekčního mýdla rozpuštěného v methanolu a BR pufru o pH 11 (1:1, V/V). Ve vloženém grafu závislost výšky píku na koncentraci triclosanu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.16** DP voltamogramy mýdla určeného pro intimní hygienu v methanolu a BR pufru o pH 11 (1:1, V/V). Ve vloženém grafu závislost výšky píku na koncentraci triclosanu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.5 Spektrofotometrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou HPLC-UV metodou standardního přídávku

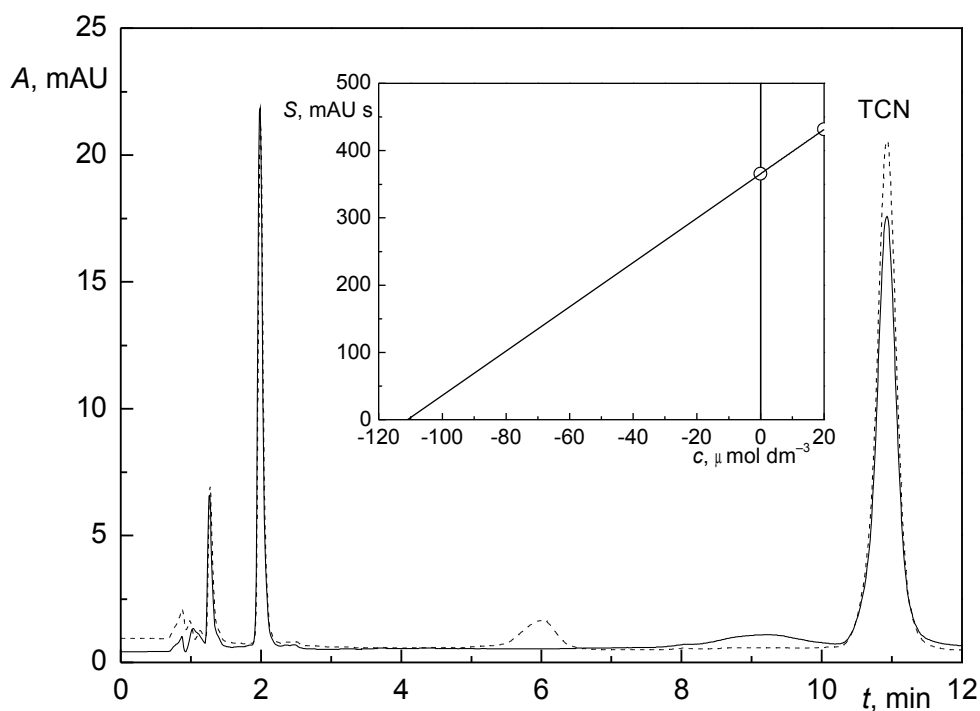
HPLC metoda byla převzata z literatury [16] a slouží jako srovnávací metoda. Na úkor své přesnosti je náročná na provoz a proto se jí vyvíjená metoda snaží nahradit.

Po přípravě vzorků a odstranění části matrice, jak je popsáno v kapitole 2.3.4, byla proměřena závislost ploch píků na koncentraci. Vzhledem k experimentální náročnosti byl přidáván pouze jeden přídavek 100  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku triclosanu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ . V tabulce (Tab. 3.4) jsou opět vyhodnoceny chromatogramy vzorků tuhého deodorantu (Obr. 3.17), zubní pasty (Obr. 3.18), desinfekčního mýdla (Obr. 3.19) a mýdla určeného k intimní hygieně (Obr. 3.20).

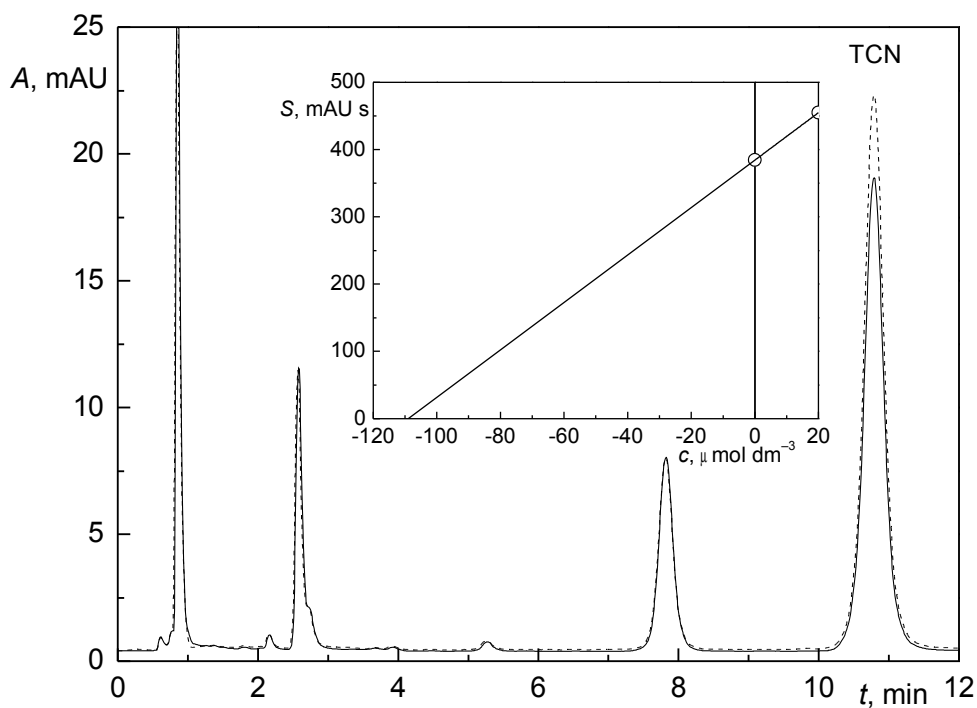
Mezi měřeními jednotlivých druhů kosmetických přípravků byla kolona promyta acetonitrilem, aby se odstranily případné interferenty.

**Tab. 3.4** Vypočtený průměrný obsah triclosanu v reálných vzorcích z naměřených chromatogramů vztažených na 100 g výrobku, interval spolehlivosti, směrodatná odchylka a relativní směrodatná odchylka. Počet měření  $n=2$ .

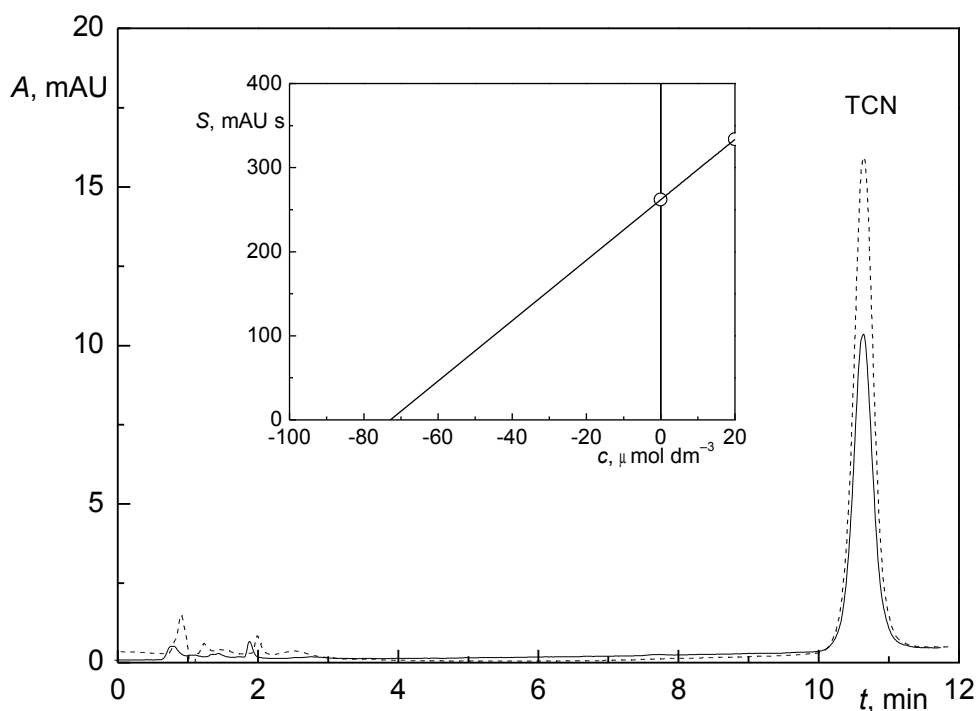
vzorek	$x_{\text{HPLC}}$ mg	$L_{1,2}$ mg	$\sigma$ mg	$\sigma_r$
tuhý deodorant	283	39	27	0,09
zubní pasta	290	23	16	0,06
desinfekční mýdlo	227	60	41	0,18
mýdlo určené na intimní hygienu	84	12	8	0,01



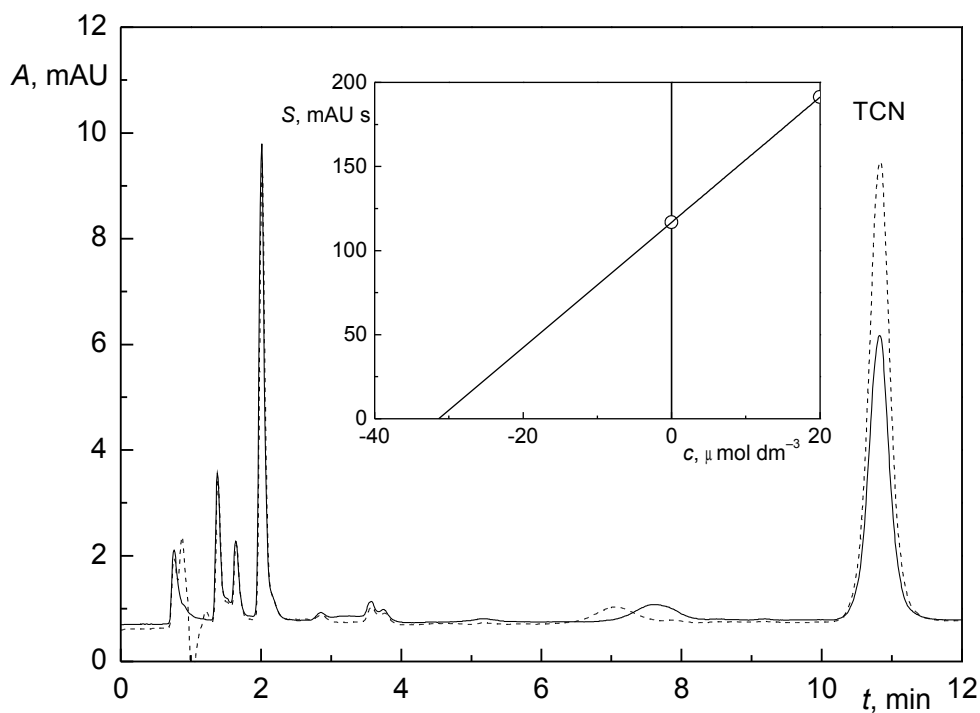
**Obr. 3.17** Chromatogramy tuhého deodorantu na koloně LiChroCART® 125-4 Superspher® 100 RP18, Merck, v mobilní fázi ACN a fosfátový pufr 70 mM o pH 3,5 (55:45, V/V), dávkováno 20  $\mu$ l, spektrofotometrická metoda detekce při 280 nm.



**Obr. 3.18** Chromatogramy zubní pasty na koloně LiChroCART® 125-4 Superspher® 100 RP18, Merck, v mobilní fázi ACN a fosfátový pufr 70 mM o pH 3,5 (55:45, V/V), dávkováno 20  $\mu$ l, spektrofotometrická metoda detekce při 280 nm.



**Obr. 3.19** Chromatogramy desinfekčního mýdla na koloně LiChroCART® 125-4 Superspher® 100 RP18, Merck, v mobilní fázi ACN a fosfátový pufr 70 mM o pH 3,5 (55:45, V/V), dávkováno 20  $\mu\text{l}$ , spektrofotometrická metoda detekce při 280 nm.



**Obr. 3.20** Chromatogramy mýdla určeného k intimní hygieně na koloně LiChroCART® 125-4 Superspher® 100 RP18, Merck, v mobilní fázi ACN a fosfátový pufr 70 mM o pH 3,5 (55:45, V/V), dávkováno 20  $\mu\text{l}$ , spektrofotometrická metoda detekce při 280 nm.

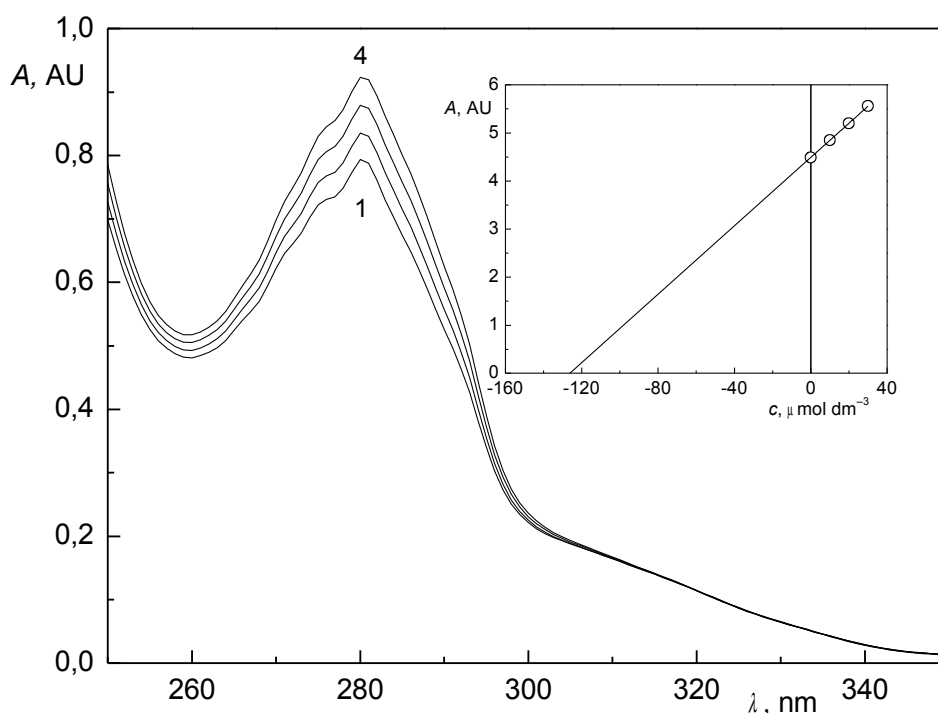
### 3.6 Spektrofotometrické stanovení triclosanu v reálných vzorcích metodou standardního přídávku

Měření bylo prováděno v 10mm křemenné kyvetě, do které byl napipetován vzorek a po proměření pipetován a proměřen standardní přídavek. Z daného měření byl spočten obsah triclosanu (Tab. 3.5). Standardní přídavek byl pipetován k vzorku tuhého deodorantu (Obr. 3.21), zubní pasty (Obr. 3.22), desinfekčního mýdla (Obr. 3.23) a mýdla určeného k intimní hygieně (Obr. 3.24). Při pohledu na grafy je zřejmé, že na pozadí vystupují interferenty znemožňující stanovení triclosanu touto metodou.

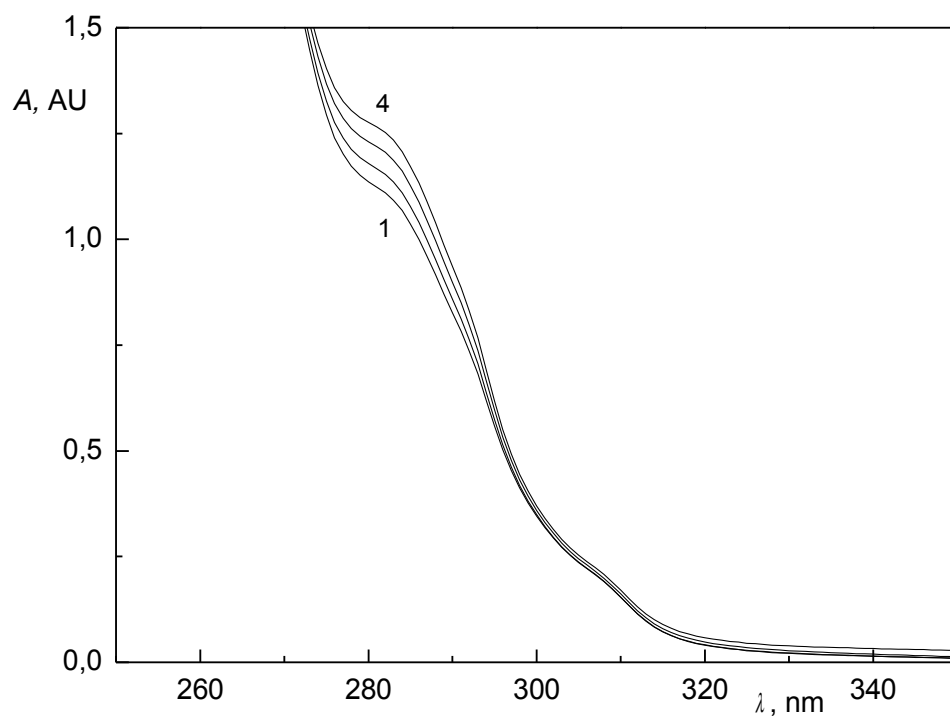
**Tab. 3.5** Vypočtené množství triclosanu stanoveného spektrofotometricky metodou standardního přídávku. Výsledek je vztažen na 100 g vzorku.

vzorek	$x$ mg
tuhý deodorant	341
zubní pasta	— <sup>a</sup>
desinfekční mýdlo	387
mýdlo určené na intimní hygienu	139

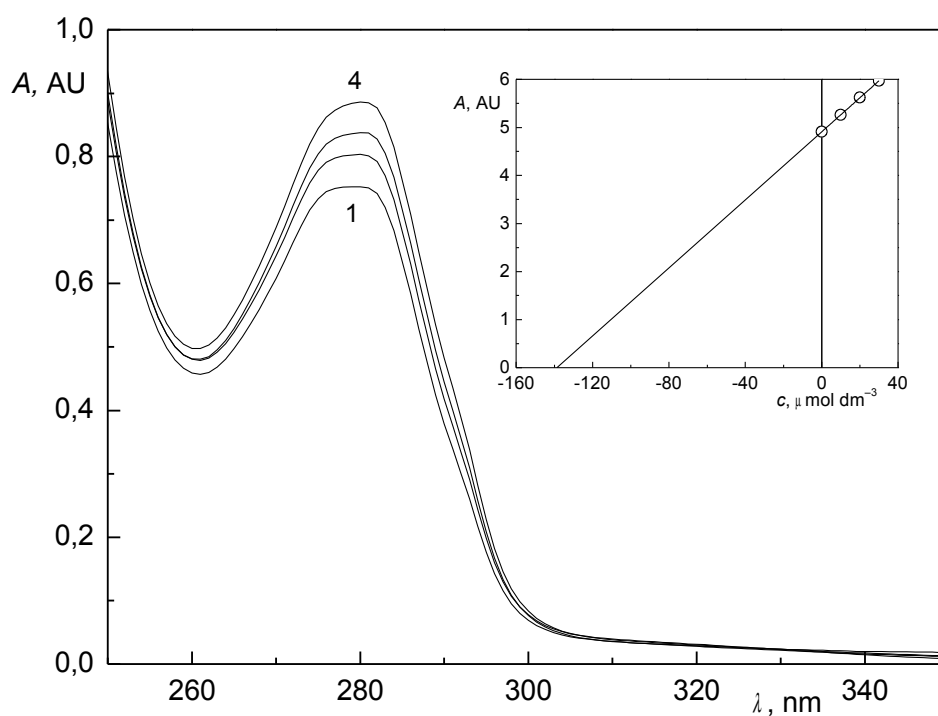
<sup>a</sup> – nebylo možno vyhodnotit z grafu.



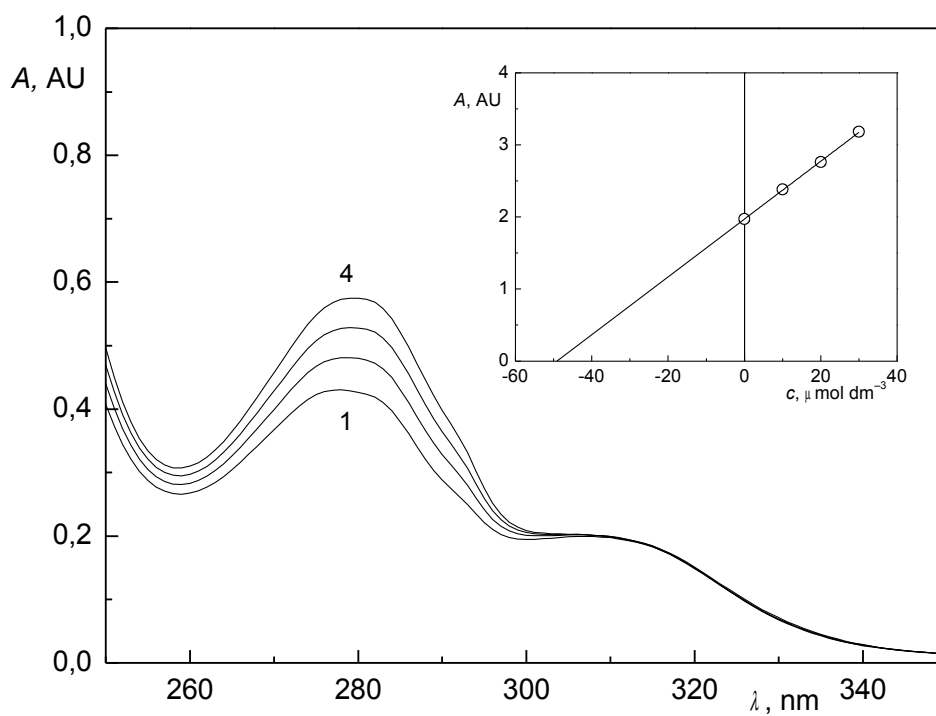
**Obr. 3.21** UV/VIS spektra tuhého deodorantu (1) a standardních přídávků (2), (3) a (4) o kroku  $1 \cdot 10^{-5}$  mol  $\text{dm}^{-3}$  triclosanu.



**Obr. 3.22** UV/VIS spektra zubní pasty (1) a standardních přídavků (2), (3) a (4) o kroku  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu.



**Obr. 3.23** UV/VIS spektra desinfekčního mýdla (1) a standardních přídavků (2), (3) a (4) o kroku  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu.



**Obr. 3.24** UV/VIS spektra mýdla určeného k intimní hygieně (1) a standardních přísadků (2), (3) a (4) o kroku  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$  triclosanu.



### 3.6 Srovnání vzorků

Vypracovaná metoda byla ověřena na reálných vzorcích. Výsledky byly srovnány metodou HPLC-UV, kterou považujeme za verifikovanou metodu (Tab. 3.6).

U dvou vzorků, které mají složitější matrici než ostatní, je naměřená koncentrace metodou DPV poloviční. Tento jev lze vysvětlit vlivem dalších látek přítomných ve vzorku, zejména tenzidů přítomných ve vzorcích [24]. Možné řešení je přidání anti-surfaktantu, které zamezí vzniku micel a následnému ustanovení rovnováhy mezi micelami a okolím. U vzorku zubní pasty pevné složky neovlivňují stanovení triclosanu. Uspokojivě lze dosáhnout stanovení triclosanu metodou DPV bez předpřípravy vzorku u zubní pasty a desinfekčního mýdla.

Pro spektrofotometrické stanovení metodou standardního přídatku je důležité mít ve vzorku co nejméně látek absorbujících v oblasti, kde absorbuje analyt. Ve všech vzorcích však byly přítomny interferenty znemožňující správné vyhodnocení křivek.

**Tab. 3. 6** Srovnání výsledků stanovení triclosanu ve vzorcích metodami DPV na CPE, HPLC-UV a spektrofotometrickém stanovení. Výsledky jsou vztaženy na 100 g vzorku.

vzorek	$x$ mg			$x_{DPV}/x_{HPLC}$	$x_{SP}/x_{HPLC}$
	DPV	HPLC-UV	Spektrofotometrie	%	%
tuhý deodorant	142±12	283±27	341	50	121
zubní pasta	282±46	290±16	– <sup>a</sup>	97	– <sup>b</sup>
desinfekční mýdlo	212±130	227±41	387	93	170
mýdlo určené k intimní hygieně	42±22	84±8	139	50	165

<sup>a</sup> – nebylo možno vyhodnotit.

<sup>b</sup> – nelze vypočítat.

## 4. Závěr

Bylo prostudováno voltametrické chování triclosanu na CPE metodou DPV v prostředí BR pufru o různém pH a množství methanolu. Množství methanolu neovlivňovalo stanovení a optimální pH BR pufru bylo stanoveno na pH 11. Prostudována byla možnost akumulace, triclosan se však akumuloval nevýrazně.

Za optimálních podmínek byla stanovena mez detekce na  $1,2 \cdot 10^{-7}$  mol  $\text{dm}^{-3}$ . Tato hodnota je srovnatelná s akumulací na CNP-PDDAC film metodou DPV [29] a lepší než popsané elektrochemické metody s výjimkou visící rtuťové kapkové elektrody [23] (viz Tab. 2.1).

Prostudována byla možnost akumulace, triclosan se však akumuloval nevýrazně.

Vypracovaná metoda byla ověřena na reálných vzorcích. Výsledky byly srovnány s komparativní metodou HPLC-UV (Tab. 3.6). Nižší naměřenou koncentraci triclosanu metodou DPV lze vysvětlit pomocí micel vytvořených tenzidy přítomnými ve vzorcích mýdel a tuhého deodorantu [24]. Uspokojivě lze dosáhnout stanovení triclosanu metodou DPV bez předpřípravy vzorku u zubní pasty a desinfekčního mýdla. Spektrofotometrické stanovení metodou standardního přídatku nelze považovat za věrohodné.

## 5. Literatura

1. A. Kielbania, R. J. Crowther: *Antimicrobial composition and method for making same*, US, Pat 233886, 19. 10. 2006.
2. Scientific committee on consumer products SCCP, Opinion on triclosan, (2009), p. 8, <[http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_166.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_166.pdf)>.
3. S. Sivaraman, T. J. Sullivan, F. Johnson, P. Novichenok, G. Cui, C. Simmerling, P. J. Tonge: Inhibition of the Bacterial Enoyl Reductase FabI by Triclosan: A Structure-Reactivity Analysis of FabI Inhibition by Triclosan Analogues. *J. Med. Chem.* **47**, p. 509-518, (2004).
4. M. J. Gomez, S. Herrera, D. Sole, E. Garcia-Calvo, A. R. Fernandez-Alba: Automatic searching and evaluation of priority and emerging contaminants in wastewater and river water by stir bar sorptive extraction followed by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Anal. Chem.* **83**, p. 2638 - 2647, (2011).
5. U. S. Environmental Protection Agency, Triclosan -Occupational and Residential Exposure Assessment, Washington, DC, (2008), <[http://oehha.ca.gov/prop65/public\\_meetings/052909coms/triclosan/ciba9.pdf](http://oehha.ca.gov/prop65/public_meetings/052909coms/triclosan/ciba9.pdf)>.
6. Ministerstvo zdravotnictví, 26/2001 Sb., <[http://www.pravnipredpisy.cz/predpisy/ZAKONY/2001/026001/Sb\\_026001\\_-----\\_.php](http://www.pravnipredpisy.cz/predpisy/ZAKONY/2001/026001/Sb_026001_-----_.php)>.
7. J.-L. Fang, R. L. Stingley, F. A. Beland, W. Harrouk, D. L. Lumpkins, P. Howard: Occurrence, Efficacy, Metabolism, and Toxicity of Triclosan. *J. Environ. Sci. Health, Part C: Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* **28**, p. 147-171, (2010).
8. D. E. Latch, J. L. Packer, B. L. Stender, J. VanOverbeke, W. A. Arnold, K. McNeill: Aqueous photochemistry of triclosan: Formation of 2,4-dichlorophenol, 2,8-dichlorodibenzo-p-dioxin, and oligomerization products. *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, p. 517-525, (2005).
9. G.-G. Ying, X.-Y. Yu, R. S. Kookana: Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modelling. *Environ. Pollut.* **150**, p. 300-305, (2007).
10. A. Kanetoshi, H. Ogawa, E. Katsura, T. Okui, H. Kaneshima: Disposition and excretion of Irgasan DP300 and its chlorinated derivatives in mice. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **17**, p. 637-644, (1988).
11. T. Moss, D. Howes, F. M. Williams: Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). *Food Chem. Toxicol.* **38**, p. 361-370, (2000).
12. M. Adolfsson-Erici, M. Pettersson, J. Parkkonen, J. Sturve: Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* **46**, p. 1485-1489, (2002).

13. D. Schena, A. Papagrigoraki, G. Girolomoni: Sensitizing potential of triclosan and triclosan-based skin care products in patients with chronic eczema. *Dermatol. Ther.* **21**, p. S35-S38, (2008).
14. J. Owens, M. Addy, J. Faulkner: An 18-week home-use study comparing the oral hygiene and gingival health benefits of triclosan and fluoride toothpastes. *J. Clin. Periodontol.* **24**, p. 626-631, (1997).
15. G. B. Bruhn, L. N. Netuschil, S. R. Richter, M. B. Brex, T. H. Hoffmann: Effect of a toothpaste containing triclosan on dental plaque, gingivitis, and bleeding on probing - an investigation in periodontitis patients over 28 weeks. *Clin. Oral. Investig.* **6**, p. 124-127, (2002).
16. A. Piccoli, J. Fiori, V. Andrisano, M. Orioli: Determination of triclosan in personal health care products by liquid chromatography (HPLC). *Il Farmaco* **57**, p. 369-372, (2002).
17. A. Sanches-Silva, R. Sendon-Garcia, J. Lopez-Hernandez, P. Paseiro-Losada: Determination of triclosan in foodstuffs. *J. Sep. Sci.* **28**, p. 65-72, (2005).
18. R. M. Pemberton, J. P. Hart: Electrochemical behaviour of triclosan at a screen-printed carbon electrode and its voltammetric determination in toothpaste and mouthrinse products. *Analytica Chimica Acta* **390**, p. 107-115, (1999).
19. S. E. Gibbons, C. Wang, Y. Ma: Determination of pharmaceutical and personal care products in wastewater by capillary electrophoresis with UV detection. *Talanta* **84**, p. 1163-1168, (2011).
20. J. Wang, J. Farrell: Electrochemical Inactivation of Triclosan with Boron Doped Diamond Film Electrodes. *Environ. Sci. Technol.* **38**, p. 5232-5237, (2004).
21. M. A. Ghanem, R. G. Compton, B. A. Coles, E. Psillakis, M. A. Kulandainathan, F. Marken: Microwave activation of electrochemical processes: High temperature phenol and triclosan electro-oxidation at carbon and diamond electrodes. *Electrochim. Acta.* **53**, p. 1092-1099, (2007).
22. J. Wang, J. Farrell: Electrochemical oxidation of triclosan at boron doped diamond surfaces. *Prepr. Ext. Abstr. ACS Natl. Meet., Am. Chem. Soc., Div. Environ. Chem.* **43**, p. 176-185, (2003).
23. A. Safavi, N. Maleki, H. R. Shahbaazi: Electrochemical determination of triclosan at a mercury electrode. *Anal. Chimi. Acta.* **494**, p. 225-233, (2003).
24. P. Raghupathy, J. Mathiyarasu, J. Joseph, K. L. N. Phani, V. Yegnaraman: Hydrotrope-driven disruption of micellar encapsulants for voltammetric detection of triclosan. *J. Electroanal. Chem.* **584**, p. 210-214, (2005).
25. I. Baranowska, K. Bijak: Differential pulse voltammetry in analysis of disinfectants 2-mercaptobenzothiazole, 4-chloro-3-methylphenol, triclosan, chloramine-T. *Cent. Eur. J. Chem.* **8**, p. 1266-1272, (2010).
26. M. Ganzera, A. Aberham, H. Stuppner: Development and Validation of an HPLC/UV/MS Method for Simultaneous Determination of 18 Preservatives in Grapefruit Seed Extract. *J. Agric. Food. Chem.* **54**, p. 3768-3772, (2006).

27. T. Wu, C. Wang, X. Wang, Q. Ma: Simultaneous determination of 21 preservatives in cosmetics by ultra performance liquid chromatography. *Int. J. Cosmetic. Sci.* **30**, p. 367-372, (2008).
28. Y. Liu, Q.-J. Song, L. Wang: Development and characterization of an amperometric sensor for triclosan detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. *Microchem. J.* **91**, p. 222-226, (2009).
29. M. Amiri, S. Shahrokhian, E. Psillakis, F. Marken: Electrostatic accumulation and determination of triclosan in ultrathin carbon nanoparticle composite film electrodes. *Anal. Chim. Acta.* **593**, p. 117-122, (2007).
30. R. N. Adams: Carbon paste electrodes. *Anal. Chem.* **30**, p. 1576, (1958).
31. I. Svancara, K. Vytras, J. Barek, J. Zima: Carbon paste electrodes in modern electroanalysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **31**, p. 311-345, (2001).
32. I. Svancara, K. Schachl: Testing of unmodified carbon paste electrodes. *Chem. Listy* **93**, p. 490-499, (1999).
33. I. Svancara, K. Vytras: Preparation and properties of carbon paste electrodes. *Chem. Listy* **88**, p. 138-46, (1994).
34. J. Zima, I. Svancara, J. Barek, K. Vytras: Recent advances in electroanalysis of organic compounds at carbon paste electrodes. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **39**, p. 204-227, (2009).