

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Analytická chemie



Bc. Petra Malá

POUŽITÍ JÍLEM MODIFIKOVANÝCH UHLÍKOVÝCH  
FILMOVÝCH ELEKTROD KE STANOVENÍ NITROFENOLŮ

Utilization of clay modified carbon film electrodes for  
the determination of nitrophenols

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Hana Dejmková, Ph.D.

Praha 2014

Tato bakalářská práce byla vypracována v rámci projektu UNCE - Univerzitní centrum excelence „Supramolekulární chemie“ a finančně podporovaná Grantovou agenturou ČR (projekt P206/12/G151).

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci vypracovala 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 diplomové práce. Chtěla bych též poděkovat všem členům laboratoře č. 112, které mohu s radostí označit za kamarády a kteří mi pomohou v jakékoliv nouzi, a členům 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 mého života.

**Klíčová slova:**

Diferenční pulzní voltametrie

Uhlíkový film

Montmorillonit

2-nitrofenol

4-nitrofenol

**Keywords:**

Differential pulse voltammetry

Carbon film

Montmorillonite

2-nitrophenol

4-nitrophenol

## **Abstrakt:**

Tato diplomová práce byla věnována možnostem nahrazení skelné uhlíkové elektrody za levnější kompozitní uhlíkový prut ve spojení s aplikací uhlíkového filmu na její povrch a důsledkům přidání modifikátoru do elektrodového materiálu.

V rámci pochopení vlivu pastovací kapaliny v uhlíkové pastové elektrodě na akumulaci látek, byl stanoven experimentálně rozdělovací koeficient minerální olej/voda pro 2NP, 4NP, 24DNP a 246TNP.

Ke zjištění možností sorpce 2NP a 4NP na MMT, byl experimentálně stanoven adsorpční koeficient.

Rastrovacím elektronovým mikroskopem byl nasnímčován povrch uhlíkového filmu za účelem zjištění distribuce MMT a polystyrenu v uhlíkovém filmu.

Byla úspěšně vyvinuta metoda akumulace 2-nitrofenolu a 4-nitrofenolu na montmorillonitem modifikovaný uhlíkový film.

# Obsah

<b>1. Teoretická část.....</b>	<b>11</b>
1.1 Cíl práce.....	11
1.2 Uhlíkové filmové elektrody.....	12
1.5 Podklady pod filmy.....	13
1.4 Jílový materiál.....	14
1.5 Navázání na předchozí studie.....	15
1.5.1 Práce Mgr. Zuzany Hranické.....	15
1.5.2 Práce Mgr. Dmytra Bavola.....	15
1.6 Studované látky.....	16
1.6.1 Vlastnosti 2-nitrofenolu a 4-nitrofenolu.....	16
1.6.2 Vlastnosti 2,4-dinitrofenolu a 3,4,6-trinitrofenolu.....	18
<b>2. Experimentální část.....</b>	<b>19</b>
2.1 Reagence.....	19
2.2 Použité přístroje.....	20
2.2.1 Voltametrie.....	20
2.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	20
2.2.3 pH metr.....	20
2.2.4 Rastovací elektronový mikroskop.....	20
2.3 Pracovní postupy.....	21
2.3.1 Voltametrie.....	21
2.3.2 Uhlíkový film.....	21
2.3.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	21
2.3.4 Příprava vzorků pro HPLC měření.....	21
<b>3. Výsledky a diskuse.....</b>	<b>22</b>
3.1 Extrakční a sorpční vlastnosti nitrofenolů.....	22
3.1.1 Rozdělovací koeficient nitrofenolů v minerálním oleji .....	22
3.1.2 Adsorbce analytu na povrch montmorillonitu.....	23
3.2 Struktura uhlíkového filmu.....	25
3.3 Porovnání voltamogramů proměřených na CFRE a CF/CFRE.....	28
3.4 Optimalizace metody stanovení 4-nitrofenolu voltametriky na CF/CRFE.....	29
3.4.1 Vliv pH.....	29
3.4.2 Opakovatelnost nanášení filmu a úprava povrchu podkladového materiálu.....	30
3.4.3 Pasivace na CFRE a CF/CFRE.....	32
3.4.4 Oplach methanolem.....	33
3.5 Optimalizace metody stanovení 4-nitrofenolu voltametriky na CF/GCE a mCF/GCE .....	34

3.5.1 Srovnání GCE, CF/GCE a mCF/GCE ve ferro-ferri systému.....	34
3.5.2 Vliv pH.....	35
3.5.3 Pasivace.....	37
3.5.4 Opakovatelnost nanášení CF na GCE.....	38
3.5.5 Oplach methanolem.....	38
3.5.6 Možnosti akumulace.....	39
<b>4. Závěr.....</b>	<b>45</b>
<b>5. Literatura.....</b>	<b>46</b>



## Seznam použitých zkratek:

2NP	2-nitrofenol
4NP	4-nitrofenol
24DNP	2,4-dinitrofenol
246TNP	2,4,6,-trinitrofenol
<i>A</i>	absorbance [mAU]
<i>A<sub>n</sub></i>	plocha píku [mAU·s]
BR pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
<i>c</i>	koncentrace [mol·dm <sup>-3</sup> ]
CAS	Chemical Abstracts Service
CFRE	kompozitní elektroda z uhlíkového prutu (Carbon Fiber Rod Electrode)
CF	uhlíkový film
mCF	modifikovaný uhlíkový film
CPE	uhlíková pastová elektroda (Carbon Paste Electrode)
CV	cyklická voltametrie (cyclic voltammetry)
<i>D</i>	rozdělovací koeficient minerální olej/voda
DPV	diferenční pulzní voltametrie (Differential Pulse Voltammetry)
DCE	dichlorethan
<i>E</i>	potenciál [mV]
<i>E<sub>AKU</sub></i>	potenciál akumulace [mV]
GCE	skelná uhlíková elektroda
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-Performance Liquid Chromatography)
<i>I</i>	proud [nA]
<i>I<sub>p</sub></i>	výška píku [nA]
<i>K<sub>OW</sub></i>	rozdělovací koeficient n-oktanol/voda
<i>L<sub>1,2</sub></i>	interval spolehlivosti (násobek rozptylu a tabelovaného koeficientu)
<i>LOD</i>	mez detekce
<i>LOQ</i>	mez stanovitelnosti
LSV	lineární voltametrie (Linear Scan Voltammetry)
<i>λ</i>	vlnová délka [nm]
<i>n</i>	počet opakovaných měření
p.a.	pro analýzu
pH	záporný dekadický logaritmus koncentrace oxoniových iontů
<i>σ<sub>r</sub></i>	relativní směrodatná odchylka
<i>t</i>	čas [min, s]
<i>t<sub>AKU</sub></i>	čas akumulace [s]
UV/VIS	spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti spektra

# 1. Teoretická část

## 1.1 Cíl práce

Cílem této práce bylo, v návaznosti na dříve prováděné experimenty s uhlíkovou pastovou elektrodou, ověřit možnost stanovení nitrofenolů na uhlíkových filmových elektrodách modifikovaných jílovými materiály. Přídavek těchto materiálů do pastových elektrod vedl ke zvýšení odezvy, ale zůstala nevyjasněná role pastovací kapaliny v tomto chování (ať již negativní nebo pozitivní). a změna pojiva v elektrodě by mohla pomoci tyto jevy vysvětlit. Současně byla ověřena extrakce analytů do minerálního oleje a schopnost montmorillonitu na sebe adsorbovat analyt pomocí vsádkové metody s využitím HPLC.

Dalším bodem, který byl ověřován, je možnost použití uhlíkové elektrody z kompozitního prutu (CFRE) jako podkladové elektrody při nanášení filmů. Tato elektroda nevyniká mezi jinými materiály svými elektrochemickými vlastnostmi, ale spíše svou dostupností a nízkou cenou, proto se nabízí jako vhodný podklad pod elektrochemicky aktivní vrstvu, která bude určovat elektrochemické vlastnosti elektrody.

## 1.2 Uhlíkové filmové elektrody

Nejdůležitější komponentou při voltametrickém měření je pracovní elektroda. Právě její parametry zásadním způsobem ovlivňují výsledek měření. Omezený okruh elektrodových materiálů může být rozšířen pokrytím elektrody vhodným uhlíkovým filmem [1]. Ten může zajistit dobrou opakovatelnost stanovení a vratně mění původní rozpětí jejího potenciálového okna na potenciálové okno blízké svému vlastnímu materiálu [2]. Jde-li o kompozitní uhlíkový film, který je složen z vodivých mikročástic, které zajišťují elektrický kontakt mezi elektrodou a analyzovaným roztokem a pojivem, pak izoluje podkladovou elektrodu od roztoku a brání nechtěným reakcím na tomto rozhraní [1].

Většina aplikací používá jako základní vodivý materiál kompozitních elektrod mikromletý grafit, protože tento materiál poskytuje široké potenciálové okno použitelné pro anodické i katodické reakce [3], skelné mikrokuličky nebo nanotrubičky [4]. V závislosti na poměru uhlík/pojivo se výsledný film chová jako mikroelektrodové pole, nebo jako elektroda s homogenním povrchem [5]. Vhodnou předpřípravou, například vkládáním potenciálových skoků, lze použít stejný film opakovaně [1] nebo může být pro každé měření nanášen nový film.

Další velkou skupinou heterogenních uhlíkových elektrod jsou sítotiskové uhlíkové elektrody, které spadají do skupiny heterogenních elektrod. Používají se jako senzory pro organické a anorganické látky a biosenzory [6]. Zejména v biochemii se modifikují vhodným přenašečem náboje [7].

Vedle kompozitních filmů jsou k dispozici čistě uhlíkové filmy. V 80. letech 20. století byla věnována pozornost filmovým elektrodám z pyrolytického grafitu a jejich porovnávání s ostatními elektrodami – v tomto článku s GCE [8]. Jeho autor, Alvin H. Beilby, se pyrolytickým uhlíkem hojně zabýval. V posledních letech ho vystřídal Mojtaba Hadi svými četnými pracemi, v nichž zkoumal nanášení pyrolytického uhlíku jako chemických výparů na podklad, který nasnímkoval pomocí SEM a zkoumal jeho elektrochemické vlastnosti [9] a možnosti předúpravy anodizací [10]. V dalších letech autor začal využívat nanokrystalický grafit, kterým stanovuje thioly [11], hydrazin [12], kyselinu askorbovou přímou oxidací [13] a provádí simultánní stanovení kyseliny askorbové, dopaminu a kyseliny močové na tomto anodizovaném materiálu [14]. V posledním roce se zabývá vláknitým pyrolytickým uhlíkem a jeho analytickými vlastnostmi [15].

Dalším zajímavým filmem, nejen z elektrochemického hlediska, je uhlíkový film modifikovaný diamantovými strukturami (DLE), který lze při nanášení i modifikovat mědí následnou elektrodepozicí měďného komplexu [16], nebo nákladněji již při výrobě (sputter deposition) iontovým popraškem různých kovů Au, Cr, Cu, Fe, Nb, Ni, Si, Sn, Ta, Ti, W a velmi často Pt [17]. Uhlík má, na rozdíl od kovů, široké potenciálové okno, ale kov zlepšuje vodivé vlastnosti tohoto materiálu [18].

## 1.5 Podklady pod filmy

Materiál, ze kterého je pracovní elektroda vyrobena, zásadně ovlivňuje možnosti měření. Uhlíkové materiály jsou komerčně dostupné a jejich pořizovací cena je nízká. Jejich chemická netečnost, stabilita a malá náchylnost k oxidaci [19] vyvažuje jejich nevýhody, zejména mechanickou křehkost a další změny na povrchu. Díky těmto pozitivním faktorům je to oblíbený materiál a díky jeho různým strukturám (grafitový prášek, uhlíková vlákna, saze, grafit, pyrolytický a skelný uhlík, uhlíkové nanočástice, aj.) [20] máme různé známé elektrodové materiály. Tyto výhody jsou důvodem, proč je na této bázi založen používaný film.

Na druhou stranu vlastnosti podkladové elektrody ovlivňují stanovení jen okrajově a tak může být prakticky jakákoliv za předpokladu, že na něm film ulpí. Můžeme si proto dovolit podklad volit podle dostupnosti.

Podíváme-li se do literatury, jako podkladové elektrody jsou velmi často elektrody ze skelného uhlíku. GCE je nejběžnější uhlíková elektroda ve voltametrické, amperometrické i potenciometrické. Velice stabilní je díky své struktuře a nízké pórovitosti, která dovoluje její povrch vyleštit vodní suspenzí aluminu do zrcadlového lesku, čímž je její povrch dobře definovaný a dobře se obnovuje [19].

CFRE je levná elektroda, která je složena z vodivých uhlíkových vláken a nevodivého pevného pojiva [21]. Podobné kompozitní elektrody jsou vyráběny i k elektrochemickým účelům – potom používají kontinuální nebo krátká uhlíková vlákna, pojivo může být epoxidové, kopolymer vinylferrocenu, vinylpyridinu, vinylesteru či vinylové estery nebo polystyren. Dle distribuce uhlíkových vláken (mikroelektrod) na řezu, kterou lze částečně ovlivnit poměrem pojivo/uhlík, můžeme očekávat různé elektrochemické chování [5, 22].

Použitá elektroda nicméně není vyrobena k použití v elektrochemii. Je to kompozitní prut používaný ke konstrukčním účelům v modelářství (ultralehká letadla [23]), obsahující kontinuální jednosměrná uhlíková vlákna [24] a epoxidové estery jako pojivo [25]. Bylo nicméně ověřeno, že vlastnosti tohoto materiálu jsou pro použití v elektrochemii vhodné [26]. Limit stanovitelnosti u této elektrody je mezi  $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ .

## 1.4 Jílový materiál

Jílové materiály ze třídy fylosilikátů, které mají vrstevnatou strukturu, rozlišujeme dle poměru zastoupení tetraedrických ( $\text{SiO}_4$ ) a oktaedrických ( $\text{AlO}_6$ ) vrstev. Dále je lze charakterizovat dle typu mezivrstev (obsah vody nebo mezivrstevního kationu), náboj vrstvy, typy oktaedrických sítí (di- nebo trioktaedrické) a celkové chemické složení, které se liší v mezivrstevném materiálu dle lokality výskytu ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , jejich hydratované formy, koordinační polyedry, atd.). Mají velký specifický povrch, schopnost vyměňovat jednotlivé ionty, zejména kovy [27] a adsorbovat či interkalovat organické sloučeniny.

Aby byl jíl více organofilní, lze u něj vyměnit interkalované anorganické ionty za organické, čímž vzniká tzv. organojíl. Nejčastěji jsou měněny za kvarterní amoniové ionty u montmorillonitu [28, 29], které též zvětšují rozestupy mezi vrstvami tohoto vrstevnatého jílu [30]. Stanovují se na nich organické sloučeniny, například fenoly [29] nebo chlorfenoly [31].

Zájem o jíly a jejich schopnost adsorpce není soustředěna pouze na analytické účely. Je studována možnost jejich využití jako nosiče hnojiv [32, 33]. Je i dobrý pohlcovač vody, takže je jako první Německo [34], v posledních letech Španělsko [33] a Čína [35] zkoumá jako potenciální nástroj pro zúrodnění pouští. Též je zkoumána jejich interakce s pesticidy, adsorpce a desorpce na přírodní jíl a organojíl [36].

Organické látky do vrstev montmorillonitů spíše interkalují, u kaolinitů se sorbují na povrch [37]. Montmorillonit má ze studovaných jíků největší plochu a značný potenciál rozvírat své vrstvy [36], proto byl zvolen pro tuto studii.

Jíl musí být pro voltametrická měření a akumulaci vhodně zachycen na elektrodě. Můžeme připravit tenkou vrstvu jílu na vodivém povrchu ukotvenou polymerem, použít Langmuirovu-Blodgettovu techniku, využít odstředivou sílu u spin-coating techniky, nebo horizontální či vertikální depozici [38]. Vliv tloušťky vrstvy a způsobu přípravy byl porovnáván v práci [39].

## 1.5 Navázání na předchozí studie

### 1.5.1 Práce Mgr. Zuzany Hranické

Řešitelka stanovovala vybrané nitrofenoly diferenční pulsní voltametrií a adsorpční rozpouštěcí voltametrií na uhlíkových pastových elektrodách modifikovaných montmorillonitem a sepiolitem; účelem modifikace bylo snížení meze stanovitelnosti.

Došla k závěru, že při měření diferenční pulsní voltametrií se přidáním modifikátoru do CPE snížila mez stanovitelnosti všech stanovovaných látek, s výjimkou 246TNP.

Při zařazení akumulčního kroku vzrostl po 5-ti minutové akumulaci signál 24DNP o 400% a 2NP o 200%, zatímco 4NP a 246TNP vykazoval zanedbatelné akumulční schopnosti.

Toto chování nitrofenolů umožnilo při použití akumulčního kroku selektivně stanovit 2NP v roztoku i se čtyřnásobným přebytkem 4NP, zatímco při stanovení bez akumulace bylo možné stanovit sumu obou nitrofenolů.

V návaznosti na tuto práci byly studovány možné příčiny popsaného chování nitrofenolů a možnost akumulace 2NP a 4NP na jiném typu elektrody modifikované montmorillonitem.

### 1.5.2 Práce Mgr. Dmytra Bavola

Řešitel prozkoumává možnosti využití uhlíkové kompozitní elektrody jako senzoru při stanovení pesticidu cymoxanilu. Mezi měřeními nebylo nutno obnovovat její povrch a její opakovatelnost vyjádřena směrodatnou odchylkou činila 1,36%. Technikou DPV bylo v redukční oblasti potenciálů dosaženo meze stanovitelnosti  $5,9 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . V oxidační oblasti byla nicméně CPE vyhodnocena jako výhodnější než CFRE.

Na základě této práce, která ověřila základní funkčnost elektrody, byl zvolen kompozitní uhlíkový prut jako levný podkladový materiál pro nanášení uhlíkového filmu.

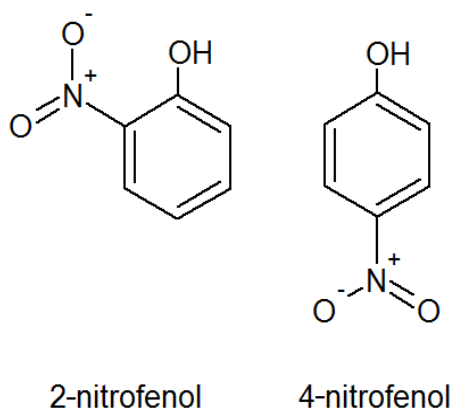
## 1.6 Studované látky

Jako analyty pro tuto studii byly zvoleny dva základní izomery nitrofenolu, tedy 2-nitrofenol (2NP) a 4-nitrofenol (4NP). V menší míře byla v návaznosti na dříve prováděné práce věnována pozornost i 2,4-dinitrofenolu a 2,4,6-trinitrofenolu.

### 1.6.1 Vlastnosti 2-nitrofenolu a 4-nitrofenolu

2-nitrofenol, CAS: 88-75-5, molární hmotnost  $139.11 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $\text{pK}_A = 7,27$  [40]

4-nitrofenol, CAS: 100-02-7, molární hmotnost  $139.11 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,  $\text{pK}_A = 7,14$  [40]



**Obr 1.1** Strukturní vzorce studovaných látek

2NP a 4NP jsou z hlediska chemických vlastností velice podobné látky. Výroba jedné látky téměř vždy doprovází druhou a jsou v mnoha pracích a textech zmiňovány a stanovovány vedle sebe. 2NP má největší využití jako meziprodukt pro výrobu barviv, pigmentů, fungicidů a pesticidů a v gumárenství [41]. Ze 4NP se vyrábí hlavně paracetamol. Dále se využívá k činění kůží, k výrobě insekticidů (methyl a ethyl paration), výrobu barviv a oxydianilinu a malé množství k výrobě fungicidů.

Nejčastější způsob vystavení organismu 2NP a 4NP je vdechnutí a dotyk. Může dojít k podráždění při styku s pevnou látkou. Vysoké hladiny vystavení mohou ovlivnit schopnost krve vázat kyslík zoxidováním hemoglobinu (methemoglobinémie) a způsobovat tak bolesti hlavy, únavu, závrať a modře zbarvenou kůži a rty. Může také poškodit játra a nervový systém.

4NP i 2NP lze stanovit voltametriky na různých elektrodách (Tab. 1.1). Příkladem lze uvést chitosanem stabilizované nanočástice stříbra, které poskytly citlivý senzor na mononitrofenoly [42], amalgámové elektrody leštěné i s rtuťovým meniskem [43] a nebo práce porovnávající skelný uhlík, pyrolitický grafit a borem dopovaný diamant, který vykazoval nejnižší limit stanovitelnosti [44].

**Tab. 1.1** Výběr voltametrických metod stanovení 4NP a 2NP.

elektroda	analyt	LOQ	citace
nAg-chitosan/GCE	4-nitrofenol (2NP a 3NP)	$2,8 \cdot 10^{-7}$	[42]
m-AgSAE	4-nitrofenol	$1,1 \cdot 10^{-6}$	[43]
	2-nitrofenol	$1,1 \cdot 10^{-6}$	
p-AgSAE	4-nitrofenol	$2,8 \cdot 10^{-6}$	[44]
	2-nitrofenol	$1,0 \cdot 10^{-6}$	
BDD	4-nitrofenol	$6,7 \cdot 10^{-8}$	
GC	4-nitrofenol	$5,3 \cdot 10^{-7}$	
PG	4-nitrofenol	$6,2 \cdot 10^{-7}$	

nAg-chitosan/GCE – chitosanem stabilizované nanočástice stříbra na skelné uhlíkové elektrodě, p-AgSAE – leštěná stříbrná pevná amalgámová elektroda, m-AgSAE – rtuťovým meniskem modifikovaná p-AgSAE, AgA-PE – stříbrná amalgámová pastová elektroda, BDDFE – borem dopovaný diamant, GC – skelný uhlík, PG – pyrolytický grafit

Dále se objevují práce zaměřené na stanovení nitrofenolů v komplexnějších vzorcích – stanovení obou či více látek ve směsi [45] nebo v odpadních vodách [46, 47]. Uplatňována je i kombinace se separačními metodami, jako je HPLC s elektrochemickou detekcí na amalgámové elektrodě [48].

Byla vypracována i metoda měření nitrofenolů ve vzduchu z prachových částic [49], textilu [50] a oleji elektrochemickou impedační spektroskopií jediné olejové kapky na sítotiskové uhlíkové elektrodě [51].

Mononitrofenoly, zejména 4NP, jsou oblíbené modelové látky, které jsou používány při vyvíjení nové instrumentace a technik stanovení (viz Tab. 1.2).



Tab. 1.2 Souhrn elektrochemických metod stanovení 4NP a 2NP z literatury za roky 2013 a 2014.

elektroda	analyt	LOQ	citace
Ag-NPs/GCE	4-nitrofenol	$4,5 \cdot 10^{-8}$	[52]
Ag <sub>2</sub> O NPs/AuE	4-nitrofenol	$5,7 \cdot 10^{-7}$	[53]
1.0 BTMA-MD	4-nitrofenol	$2,1 \cdot 10^{-5}$	[54]
Ag/MWCNT/GC	4-nitrofenol	$3,9 \cdot 10^{-6}$	[55]
fMWCNTs/ZrO <sub>2</sub> /GCE	4-nitrofenol	$9,0 \cdot 10^{-8}$	[56]
Gr-Chit/ABPE	2-nitrofenol	$6,0 \cdot 10^{-7}$	[46]
	4-nitrofenol	$2,4 \cdot 10^{-7}$	
Mg/Fe-LDH	2-nitrofenol	$1,2 \cdot 10^{-5}$	[57]
Bi-SPE (s SPE)	2-nitrofenol	$1,4 \cdot 10^{-6}$ ( $2,1 \cdot 10^{-8}$ )	[58]
	4-nitrofenol	$1,3 \cdot 10^{-6}$ ( $2,7 \cdot 10^{-8}$ )	

Ag-NPs/GCE – stříbrné nanodestičky na skelné uhlíkové elektrodě, Ag<sub>2</sub>O Nps/AuE – nanočástice oxidu stříbrného na ploché polykrystalické zlaté elektrodě, fMWCNTs/ZrO<sub>2</sub>/GCE – nanočástice oxidu zinečnatého na funkcionalizovaných vícevláknových nanotrubičkách, Ag/MWCNT/GC – stříbrné nanočástice na vícevláknových uhlíkových nanotrubičkách, Gr-Chit/ABPE – chitosanem stabilizovaný grafen na pastové elektrodě z acetylenových sazí, Mg/Fe-LDH – benzyltrimethylammoniovým kationtem funkcionalizovaný vícevláknový uhlíkový nanotrubičky, Bi-SPE – síťotisková elektroda modifikovaná bismutem

### 1.6.2 Vlastnosti 2,4-dinitrofenolu a 3,4,6-trinitrofenolu

24DNP (CAS 51-28-5) je používán k výrobě barviv, mořidel dřeva, jako pesticid a indikátor pro detekci draselných a amonných iontů [41]. Během 30. let 20. století byl používán jako pilulka na hubnutí, jejíž používání skončilo v roce 1938. Během 30. let 20. století byl používán jako pilulka na hubnutí, která způsobila zrychlený bazální metabolismus [59], a jejíž používání skončilo v roce 1938.

246TNP (CAS 88-89-1) je používán jako výbušnina, ve výrobě zápalek, baterií, ohňostrojů, k leptání kovu a ve zpracování kůže [60].

Symptomy mají 24DNP a 246TNP velmi podobné. Nejčastěji je vdechnut nebo analyt pronikne kůží. V sypké formě může způsobit podráždění nebo popálení. Při vyšší hladině vystavení způsobuje bolesti hlavy, závratě, nevolnost a zvracení. Dlouhodobé nebo opakované vystavení může způsobit poškození jater, ledvin a anémii [61].

## 2. Experimentální část

### 2.1 Reagence

Studované látky: 2-nitrophenol (p.a., Sigma-Aldrich, SRN)  
4-nitrophenol (99,0 % ReagentPlus®, Sigma-Aldrich, SRN)  
2,4-dinitrophenol (p.a. Reachim, RUS)  
kyselina pikrová (p.a.)

Zásobní roztoky o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  byly připraveny odvážením přesného množství určité látky a jejím rozpuštěním v roztoku kyseliny chlorovodíkové o pH 2, v odměrné baňce. Zásobní roztoky byly uchovávány v temnu. Roztoky o nižších koncentracích byly připraveny přesným ředěním těchto roztoků.

V případě 4NP byl připraven ještě druhý zásobní roztok o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  odvážením přesného množství látky a jejím rozpuštěním v destilované vodě. Byla skladována v temnu a chladu.

BR pufrů o příslušném pH byly připravovány mísením zásadité a kyselé složky do dosažení požadovaného pH, jehož hodnota byla měřena pH metrem. *Kyselé 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 konečné koncentraci  $0,04 \cdot \text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . *Zásaditá složka pufru* byl  $0,2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztok hydroxidu sodného (p.a., Lach-Ner Neratovice, ČR).

Uhlíkový inkoust byl připraven smísením 0,9 g grafitu (Graphite Týn), 0,1 g polystyrenu (obalový pěnový) a 10 ml dichlorethanu (Sigma-Aldrich, SRN).

Dalšími použitými chemikáliemi byl methanol (pro HPLC, Merck, SRN), acetonitril (pro HPLC, Merck, SRN) a minerální olej (Sigma-Aldrich, SRN).

## 2.2 Použité přístroje

### 2.2.1 Voltametrie

Pro voltametrická měření byla používána sestava Eco-Tribo-polarograf se softwarem Polar Pro v.4 (Polarosensors, ČR) ve tříelektrodovém zapojení, kde referentní elektrodu tvořila argentochloridová ( $3 \text{ mol dm}^{-3}$  chlorid draselný) a pomocnou elektrodu platinová plíšková elektroda. Pracovní elektroda byla CFRE a GCE pokryta modifikovaným a nemodifikovaným filmem. Výroba filmů je popsána v kapitole 2.3.2.

### 2.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Sestava pro měření vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) se skládala z následujících částí:

Pumpa: BETA 10, Ecom, ČR

Degasser: DG 4014, Ecom, ČR

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

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

Kolona: LiChroCART® 125-4 Purospher® RP-18, č. kolony: 136028, Merck, NSR

Detektor: Sapphire 800, Ecom, ČR

Program: Clarity version 2.4.1.87 DataApex

### 2.2.3 pH metr

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

### 2.2.4 Rastovací elektronový mikroskop

skenovací elektronový mikroskop Mira3 (Tescan, ČR).

## 2.3 Pracovní postupy

### 2.3.1 Voltametrie

Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty ve voltametričeských nádobkách objemu 10 ml a měření opakováno desetkrát pro výpočet opakovatelnosti a třikrát pro ostatní měření, není-li uvedeno jinak. Parametry DPV techniky byly nastaveny na rychlost polarizace  $20 \text{ mV s}^{-1}$ , šířku pulzu 100 ms a výšku pulzu 50 mV. LSV technika byla nastavena na  $100 \text{ mV s}^{-1}$ .

Roztoky o požadované koncentraci byly připraveny ze zásobního vodného roztoku 4NP o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ , odpipetováním potřebného objemu a doplněním do objemu 10 ml BR pufrům o daném pH.

### 2.3.2 Uhlíkový film

Byly připraveny dva druhy uhlíkového filmu, na kterém byla prováděna voltametričeská měření. Nemodifikovaný CF byl připraven smísením 0,9 g grafitu, 0,1 g polystyrenu a 10 ml DCE. Modifikovaný CF (mCF) byl připraven smísením 0,8 g grafitu, 0,1 g polystyrenu, 0,1 g MMT a 10 ml DCE.

Pro snímkování na rastrovacím elektronovém mikroskopu byly připraveny další typy inkoustů. Inkoust z mikrokuliček ze skelného uhlíku o rozměrech 0,4–12  $\mu\text{m}$  byl připraven odvážením 0,9 g mikrokuliček, 0,1 g polystyrenu a naředěním 10 ml DCE. Stejný inkoust s obsahem jílu byl připraven navážením 0,8 g mikrokuliček, 0,1 g polystyrenu, 0,1 g MMT a rozpuštěním v 10 ml DCE.

CF byl na podkladovou elektrodu nanášen automatickou pipetou. Na CFRE bylo pipetováno 3  $\mu\text{l}$  a na GCE 2  $\mu\text{l}$ .

### 2.3.3 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Mobilní fáze byla připravena smísením methanolu pro HPLC a BR pufru o pH 5 (6:4, V/V). Podmínky převzaty z práce Jany Musilové-Karaové [62]. Průtok mobilní fáze byl  $1 \text{ ml min}^{-1}$ .

K detekci byla využita spektrofotometrická detekce při vlnových délkách 360 nm pro 2NP a 4NP, 210 nm pro 24DNP a 230 nm 346TNP.

### 2.3.4 Příprava vzorků pro HPLC měření

Vzorky pro zjištění rozdělovacího koeficientu byly připraveny napipetováním 2 ml minerálního oleje do 4 ml roztoků 2NP, 4NP, 24DNP a 246TNP o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  a třepáním. Doba stabilizace byla 2 hodiny.

Vzorky pro orientační zjištění sorpce na MMT byly připraveny odvážením 0,2 g MMT do 10 ml roztoku analytů 2NP, 4NP, 24DNP a 246TNP o koncentraci  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v BR pufru o pH 2 a u 4NP i pH 10. Dosažení rovnováhy se v tomto případě dá očekávat přibližně po 4 dnech [63]; po tomto intervalu bylo provedeno měření.

### 3. Výsledky a diskuse

#### 3.1 Extrakční a sorpční vlastnosti nitrofenolů

##### 3.1.1 Rozdělovací koeficient nitrofenolů v minerálním oleji

Mgr. Zuzana Hranická akumulovala vybrané nitrofenoly na povrch uhlíkové pastové elektrody s příměsí jílu [64]. Zvýšená akumulace byla připsána jílovým materiálům, nicméně při použití uhlíkové pasty sehrává roli pojiva minerální olej, je tedy zapotřebí uvažovat také jeho roli v absorpčním procesu. Parametr, kterým se můžeme řídit, chceme-li odhadnout, které látky budou absorbovány do organické fáze, je rozdělovací koeficient n-oktanol/voda. Podle dostupných literárních údajů je tento parametr obdobný pro všechny zkoumané nitrofenoly, literární údaje ovšem naznačují, že rozdělovací koeficienty nitrofenolů vůči jiným kapalinám mohou být mnohem proměnlivější [65].

Bylo provedeno orientační stanovení rozdělovacího koeficientu minerální olej/voda. Vzorky byly připraveny způsobem popsaným v kapitole 2.3.3. Rozdělovací koeficient je odhadnut z plochy píků dle rovnice (3.1)

$$D = \frac{A_1 - A_2}{A_2} \cdot \frac{V_{MO}}{V}, \quad (3.1)$$

kde  $D$  je rozdělovací koeficient,  $A_1$  plocha píku před extrakcí,  $A_2$  plocha píku po extrakci,  $V_{MO}$  objem minerálního oleje a  $V$  objem vodného roztoku analytu.

Je přitom nutné uvážit, že experimentální hodnoty rozdělovacího koeficientu minerální olej/voda, zde označený jako  $D$ , jsou velmi ovlivněny zvolenou experimentální metodou a podmínkami, například pH vodné složky.

Získané výsledky, shrnuté v tabulce 3.1, ukazují, jak se studované látky v roztoku o pH 2 extrahují do minerálního oleje; odpovídající chromatogramy jsou znázorněny na Obr. 3.1. Extrakce 4NP a 246TNP není pozorovatelná, zatímco 2NP a 24DNP se extrahují.  $K_{ow}$  [66] a odhad rozdělovacího koeficientu  $D$  spolu tedy nekoreluje.

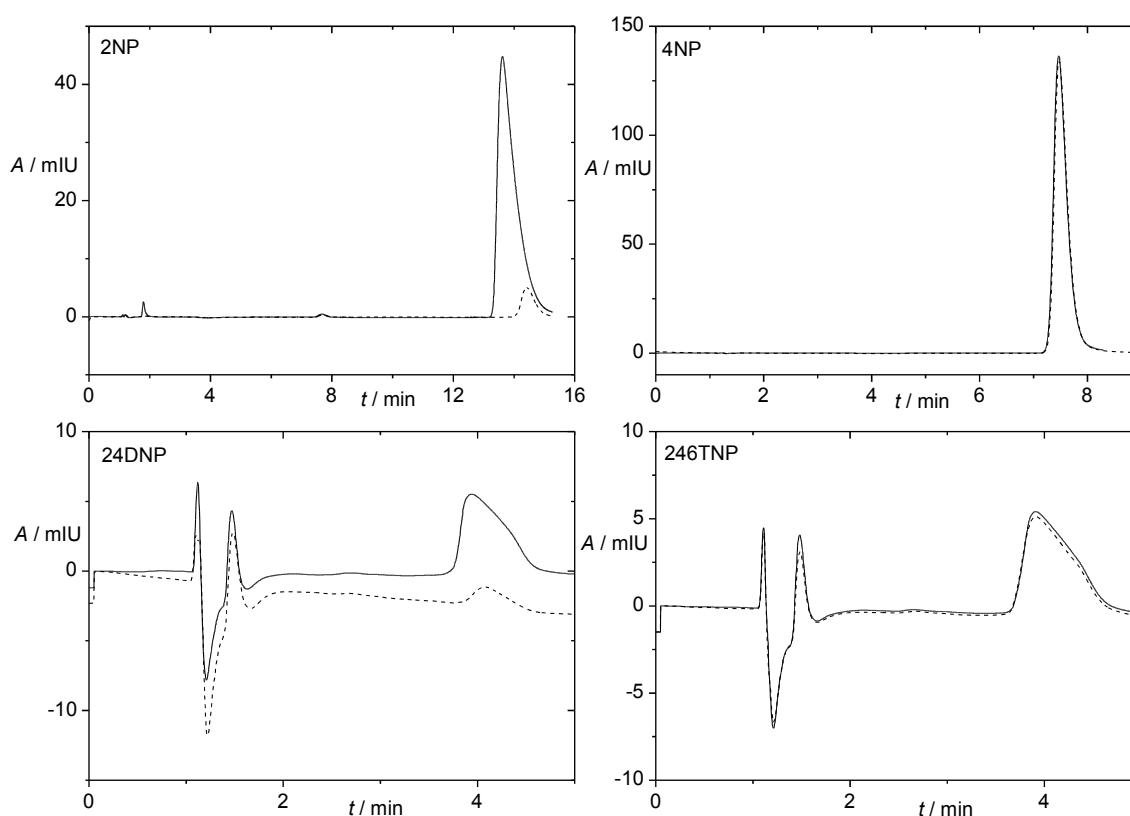
Tento výsledek by mohl vysvětlit různou míru akumulace 2NP a 4NP na jílem modifikovanou CPE. V případě použití elektrody s jiným pojivem, například kompozitních filmových elektrod, bude tento efekt eliminován a projeví se v plné šíři absorpce na jílové materiály.

**Tab. 3.1** Extrakční parametry studovaných nitrofenolů - extrakce minerálním olejem z vodné fáze o pH 2. [66].

sloučenina	$A_1$	$A_2$	$D$	$K_{OW}$
2-nitrofenol	1837.2	156.0	22.0	58.9
4-nitrofenol	2413.7	2416.5	0 <sup>a</sup>	81.3
2,4-dinitrofenol	188.8	44.9	6.0	32.4
2,4,6,-trinitrofenol	204.5	206.4	0 <sup>a</sup>	21.4

a:– Vzhledem k použité metodě měření nelze hodnoty blízké nule spolehlivě odhadnout.

$A_1$  je plocha píku analytu před extrakcí,  $A_2$  je plocha píku analytu po extrakci,  $D$  je odhad rozdělovacího koeficientu a  $K_{OW}$  je rozdělovací koeficient oktanol-voda.



**Obr. 3.1** Chromatogramy 2NP, 4NP, 24DNP a 246TNP před a po extrakci minerálním olejem (nepřerušovaná čára znázorňuje chromatogram  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  vodného roztoku analytu, přerušovaná čára tentýž roztok po extrakci polovičním objemem minerálního oleje). Měřeno na koloně LiChroCART® 125-4 Purospher® RP-18, Merck, složení mobilní fáze: methanol a BR pufr o pH 5 (4:6, V/V), dávkovaný objem 20  $\mu\text{l}$ , spektrofotometrická detekce při 360 nm u 2NP a 4NP, a 230 nm u 24DNP a 246TNP.

### 3.1.2 Adsorbce analytu na povrch montmorillonitu

Ke zjištění sorpce 2-NP a 4-NP na MMT při různých pH byla zvolena vsádková metoda použita v práci [63] a HPLC-UV byla použita k jejímu vyhodnocení. Příprava vzorků je zmíněna v kapitole 2.3.4.

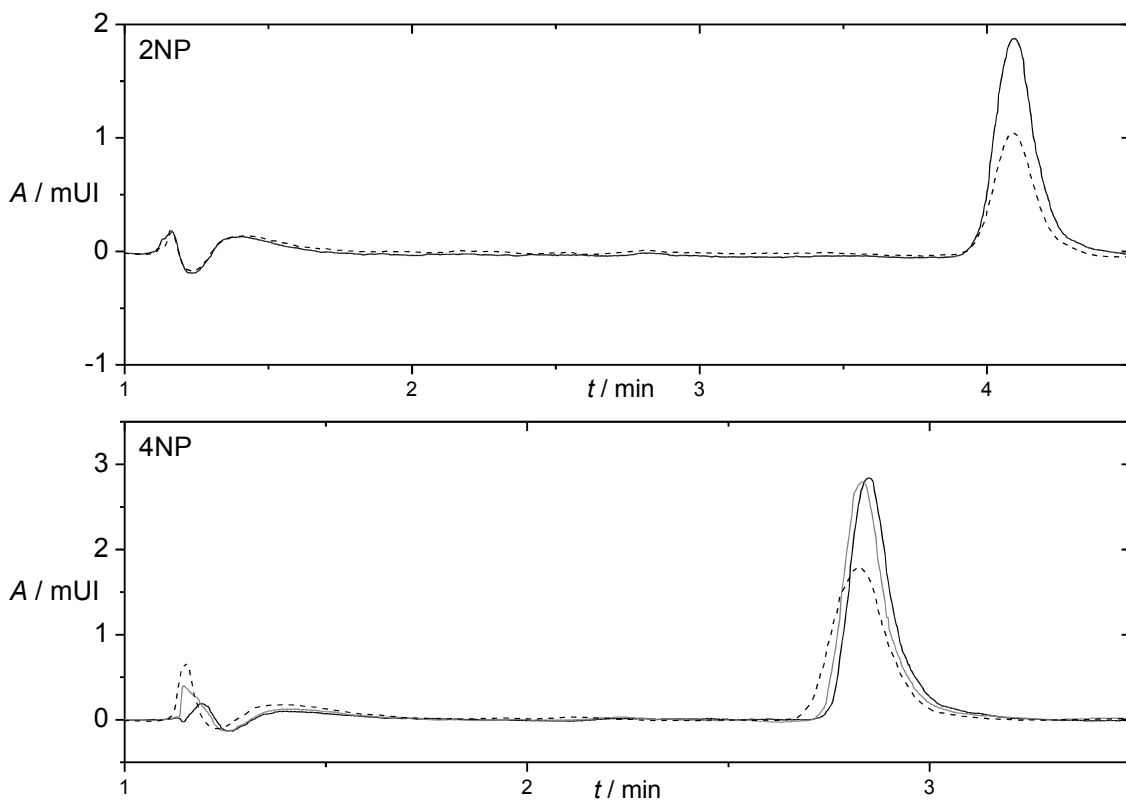
Zatímco v případě 2NP je patrný znatelný pokles koncentrace analytu v roztoku o pH 2, jež přišel do kontaktu s MMT, v případě 4NP v tomto pH k absorpci nedochází a 4NP musel být v BR pufru o pH 10, aby se sorboval (Obr. 3.3). Hodnota pH 10 je tedy pro adsorbci 4NP příznivá a akumulace na uhlíkový film s jílem by měla být prováděna při těchto podmínkách. Abychom vyjádřili míru adsorbce, byl spočten adsorpční koeficient dle rovnice 3.2 v práci [63]:

$$K_d = \frac{n_i^s}{c_{i,0}} = \frac{c_i^s \cdot V}{m \cdot c_{i,0}} = \frac{(c_{i,0} - c_i) \cdot V}{m \cdot c_{i,0}}, \quad (3.2)$$

kde  $K_d$  je rozdělovací koeficient,  $c_i^s$  koncentrace látky nasorbované na povrch jílu,  $c_{i,0}$  koncentrace analytu v roztoku před sorpcí v  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ,  $m$  hmotnost jílu,  $V$  objem roztoku v ml a  $c_i$  koncentrace analytu v roztoku po sorpci v  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Koncentrační poměry lze v praxi zaměnit za poměry odezev, v našem případě ploch píků.

**Tab. 3.2** Sorpční parametry 2NP a 4NP – porovnání odezvy před a po vytřepání s montmorillonitem v pufru o pH 2 a v případě 4-nitrofenolu i pH 10.

sloučenina	pH	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	K <sub>d</sub> / $\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$
2-nitrofenol	2	19.0	11.3	20.3
4-nitrofenol	2		21.7	0.3
4-nitrofenol	10	21.8	17.3	10.3



**Obr. 3.3** Chromatogramy 2NP s 4NP, před a po adsorpci na montmorillonit (nepřerušovaná čára znázorňuje chromatogram  $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztoku analytu v Brittonově-Robinsonově bufru o pH 2, přerušovaná čára tentýž roztok po předchozí adsorpci na jílu, šedivá čára v případě 4-nitrofenolu roztok analytu s předchozí adsorpcí na jílu v pufru o pH 10). Měřeno na koloně LiChroCART® 125-4 Purospher® RP-18, složení mobilní fáze: methanol a BR pufr o pH 5 (6:4, V/V), dávkovaný objem 20  $\mu\text{l}$ , spektrofotometrická detekce při 360 nm.



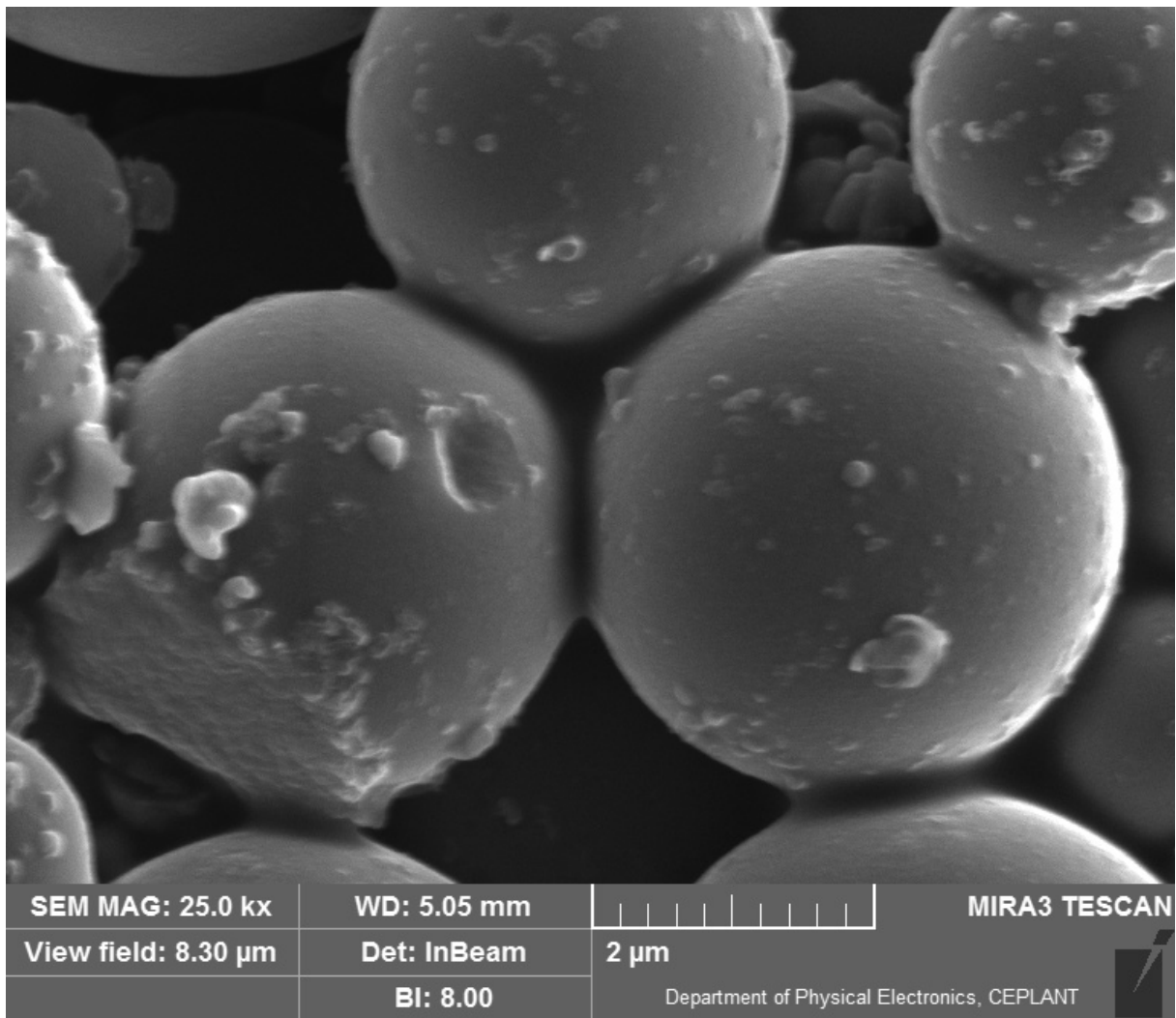
## 3.2 Struktura uhlíkového filmu

Uvážíme-li postup přípravy uhlíkového filmu (CF) – smíchání grafitu či jiné formy uhlíku s rozpuštěným polymerem a vypaření rozpouštědla – máme jen neurčitou představu o tom, jak polymer zpevňuje vzniklý film. Zda vyplňuje prázdný prostor mezi částicemi, nebo spojuje částice tam, kde se dotýkají, jak spojuje MMT s uhlíkovými částicemi a zda pokrývá rovněž povrch vodivých i jílových částic. Skenovací elektronová mikroskopie může naznačit alespoň některé z odpovědí; kromě filmu na bázi grafitu byl připraven film z mikrokuliček skelného uhlíku, jejichž pravidelný tvar umožňuje snadnější sledování.

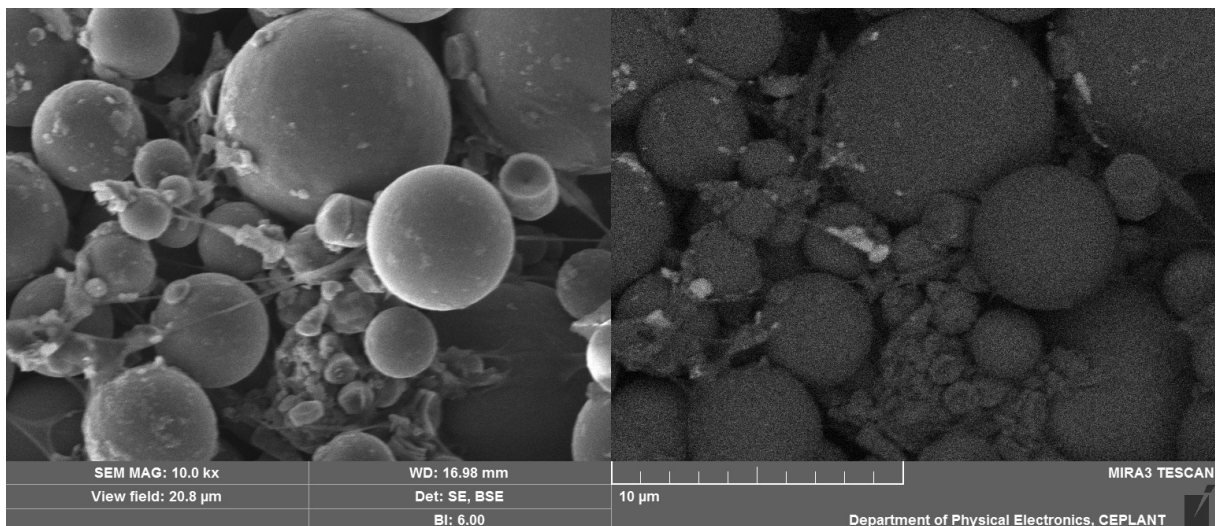
Snímek CF z mikrokuliček ze skelného uhlíku ukazuje, že na detailu jejich dotyků (Obr. 3.4) je vidět polystyrenová vrstva, jež je drží u sebe, ovšem vrstva není spojena kontinuálně, zůstává částečně pórézní. Abychom lépe viděli, kde všude polystyren ulpívá na povrchu, byl nasnímkován mechanicky poškozený film (Obr. 3.5). Vidíme, že pod povrchem jsou jednotlivé uhlíkové částice spojeny vlákny polystyrenu; některé polystyrenové struktury naznačují možnost pokrytí uhlíkových částic polystyrenovým filmem, ale nelze ji spolehlivě potvrdit.

Dále bylo naším zájmem zjištění distribuce MMT v CF a pokus o zjištění, je-li též obalen polystyrenem. Částice MMT jsou větší než uhlíkové částice a jsou tedy v CF ze skelných mikrokuliček zanořeny a na jejich povrchu ulpívají osamocené mikrokuličky skelného uhlíku (Obr. 3.6).

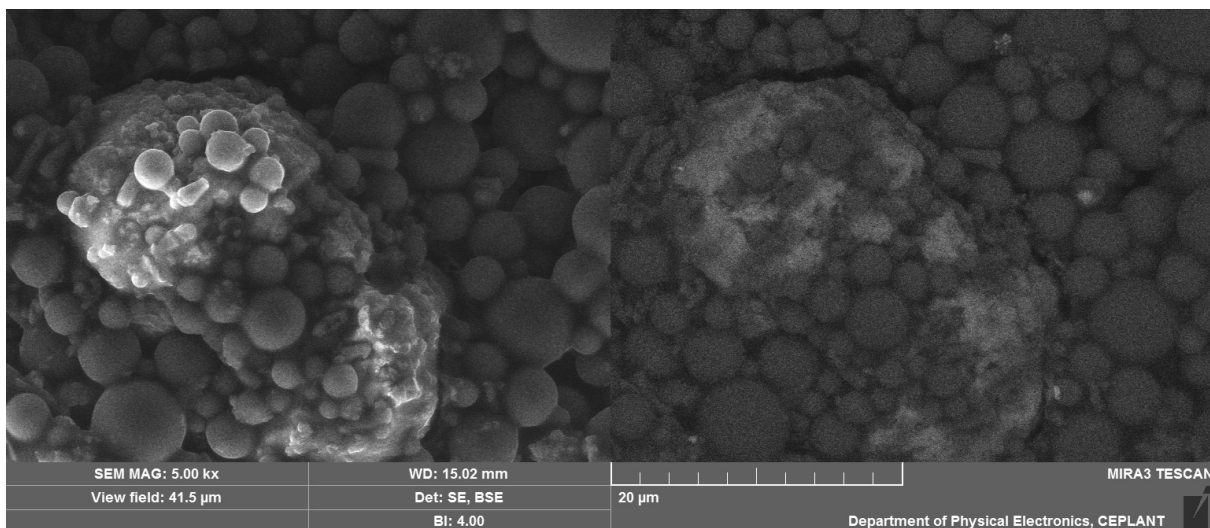
U CF z grafitu lze předpokládat obdobné chování, pouze je vzhledem ke tvaru částic obtížně pozorovatelné. Jíl, stejné vrstevnaté struktury jako grafit, je rozložen povrchu i v hloubce vrstvy (Obr. 3.7).



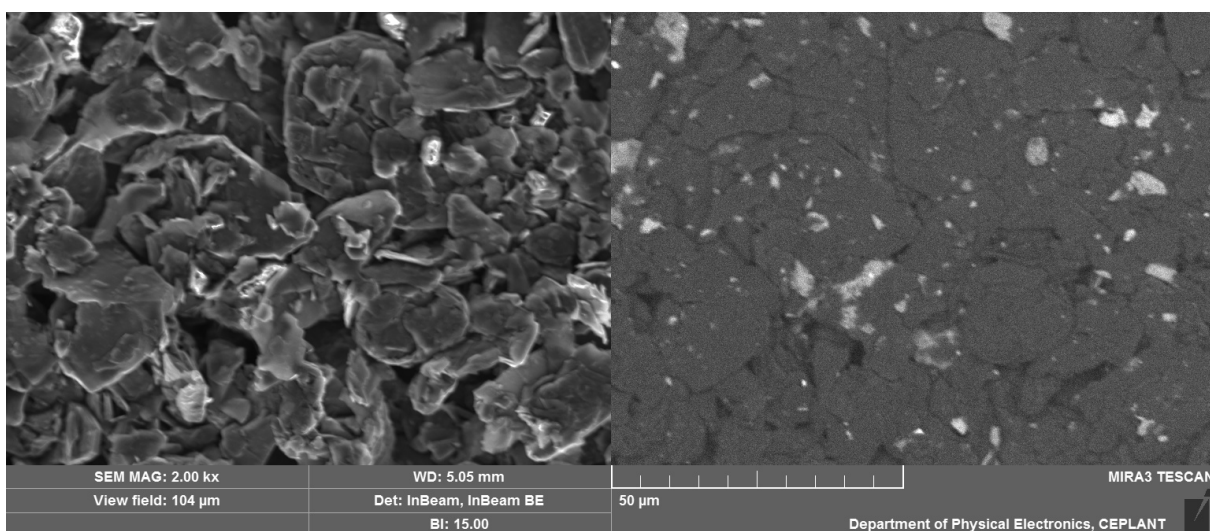
**Obr. 3.4** Detail snímku uhlíkového filmu ze skelných mikrokuliček 0,4–12  $\mu\text{m}$  z rastrovacího elektronového mikroskopu.



**Obr. 3.5** Detail snímku poškozeného uhlíkového filmu ze skelných mikrokuliček 0,4–12  $\mu\text{m}$  z rastrovacího elektronového mikroskopu.



**Obr. 3.6** Detail snímku uhlíkového filmu ze skelných mikrokuliček 0,4–12  $\mu\text{m}$  s montmorillonitem z rastrovacího elektronového mikroskopu.

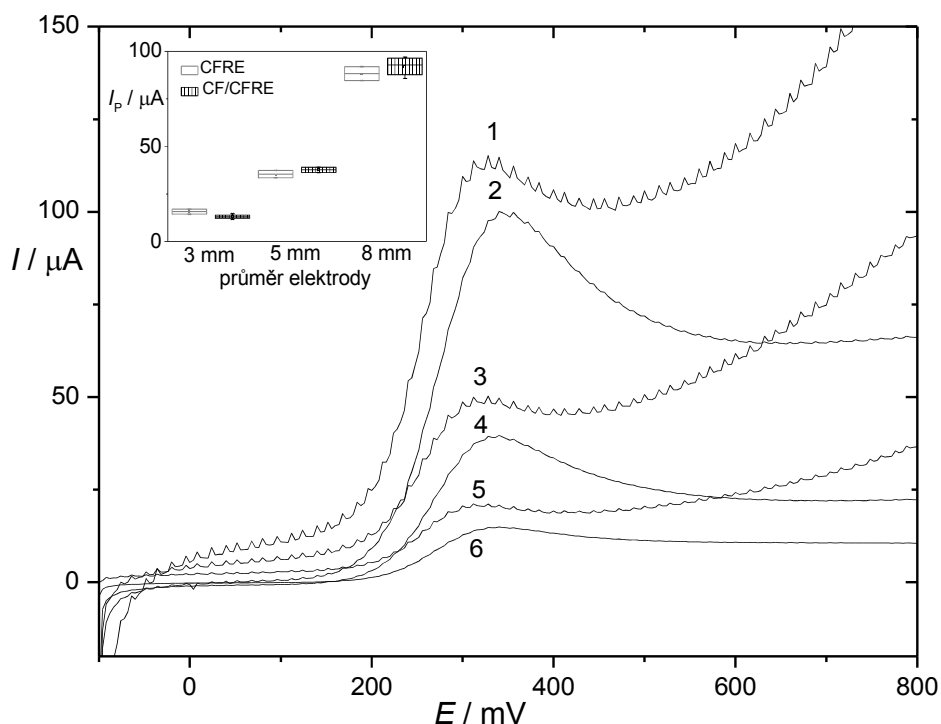


**Obr. 3.7** Snímek uhlíkového filmu z grafitu s montmorillonitem z rastrovacího elektronového mikroskopu. Montmorillonit je v pravé části obrázku světlý.

### 3.3 Porovnání voltamogramů proměřených na CFRE a CF/CFRE

Po předběžných extrakčních a akumulčních měřeních byla jako další část práce testována možnost použít jako podklad pod uhlíkové filmy pracovní elektrodu z uhlíkového kompozitního prutu. Pro získání základní informace o chování elektrody a ovlivnění průběh křivky přítomností naneseného filmu byla použita metoda lineárního skenu v roztoku hexakvanoželeznatanu draselném o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v jednomolárním roztoku chloridu draselného, přičemž byly testovány elektrody o různých průměrech a srovnávány s odezvou samotného kompozitního prutu (Obr. 3.8).

Křivky s naneseným uhlíkovým filmem vykazovaly menší šum a nižší proudové pozadí, což usnadnilo odečítání píků. Čím větší byl průměr elektrody, tím ztelnější byl pozitivní efekt naneseného filmu.



**Obr. 3.8** Anodické LS voltamogramy hexakvanoželeznatanu draselného o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí jednomolárního chloridu draselného. CFRE o průměru 8 mm (1, 2); 5 mm (3, 4); 3 mm (5, 6) 3 mm bez uhlíkového filmu (1, 3, 5) a s uhlíkovým filmem (2, 4, 6). Podmínky LSV: rychlost polarizace  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ .

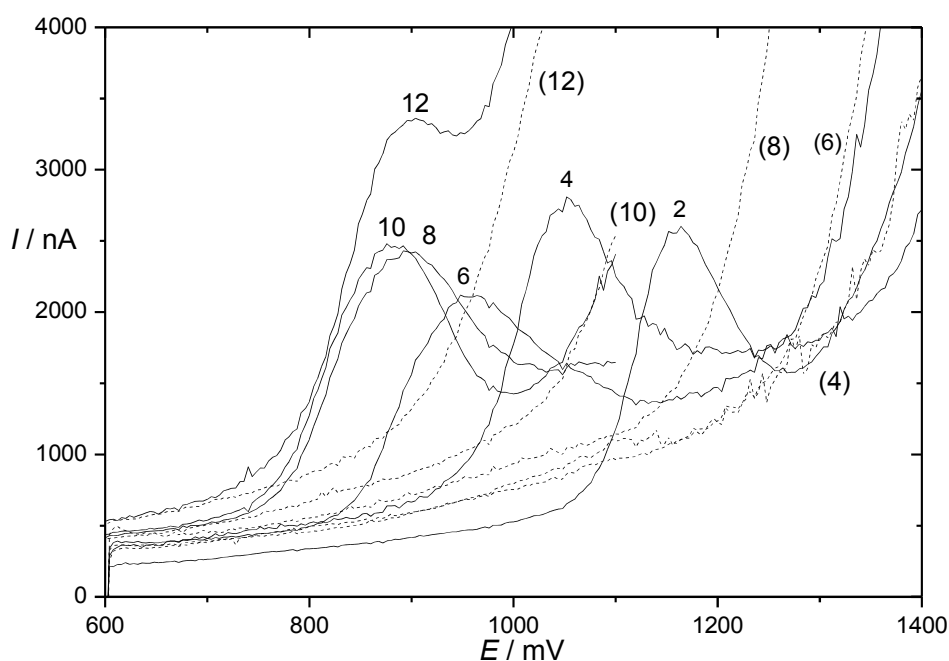
### 3.4 Optimalizace metody stanovení 4-nitrofenolu voltametricky na CF/CRFE

#### 3.4.1 Vliv pH

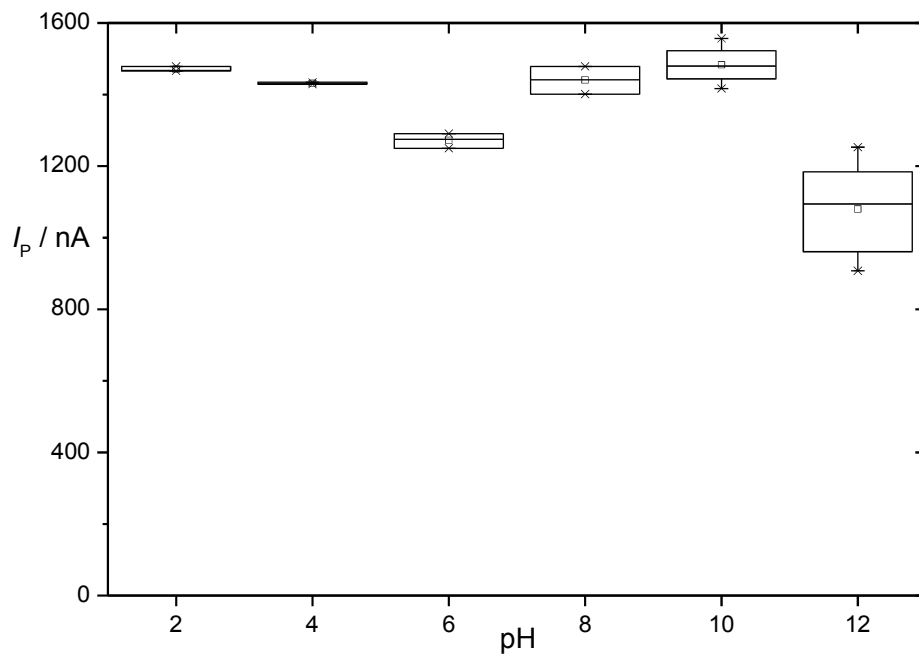
Důležitou roli při měření hraje hodnota pH. Velikost odezvy elektrody se může v různém prostředí značně lišit, je tedy důležité zvolit pH, při kterém je odezva přístroje největší a tedy kalibrační závislost nejstrmější. Byla provedena série měření, při kterém měl BR pufr různé hodnoty pH, od pH 2 po pH 12. Uhlíkový povrch byl obnovován po každém měření a její povrch byl čištěn o filtrační papír.

4NP poskytuje v celé škále pH jeden pík (Obr. 3.9), jehož potenciál se se snižujícím pH posouvá k vyšším hodnotám; při pH 8 a vyšším zůstává pozice píku prakticky nezměněna. Konec potenciálového okna se posouvá ke kladným hodnotám se snižujícím se pH a při pH 6, 4 a 2 byl tento posun zastaven, a křivky se nijak výrazně nelišily.

Pro stanovení látky je důležité zvolit pH, u kterého analyt vykazuje nejvyšší výšku píku. Dle grafu Obr. 3.10 bylo usouzeno, že výška píků u pH 2 a 10 je vyhovující a pH 10 bylo zvoleno za konečné pro další možnost testování jílu adsorbovat na jílem modifikované elektrody.



**Obr. 3.9** Anodické DP voltamogramy 4-nitrofenolu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru. Číslo křivky odpovídá pH pufru. Čísla čárkovaných křivek v závorce označují voltamogram základního elektrolytu při daném pH. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.10** Závislost výšky píku 4-nitrophenolu na pH u anodických DP voltamogramů o koncentraci analytu  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.4.2 Opakovatelnost nanášení filmu a úprava povrchu podkladového materiálu

Dále bylo třeba ověřit, s jakou opakovatelností lze nanášet novou vrstvu filmu na kompozitní elektrodu z uhlíkových vláken a jaká je vhodná úprava podkladové elektrody. Tento film byl doposud nanášen na elektrodu pouze očištěnou filtračním papírem, protože dle článku [1] není podkladový materiál ovlivněn. Srovnávací měření byla prováděna sčištění elektrody na jemném smirkovém papíře zrnitosti 1600, obdobně jako byl obnovován povrch elektrody při měření bez nanášení filmu [26]. Bylo provedeno 10 měření u každé metody a sestrojen krabicový graf (Obr. 3.11).

Relativní směrodatná odchylka první metody otření filtračním papírem 9,2 % a smirkovým 14%. Signál a pozadí u smirkovaného povrchu je vyšší, pravděpodobně kvůli větší hrubosti povrchu a tedy větší ploše filmu. Je tedy výhodnější čištění filtračním papírem.



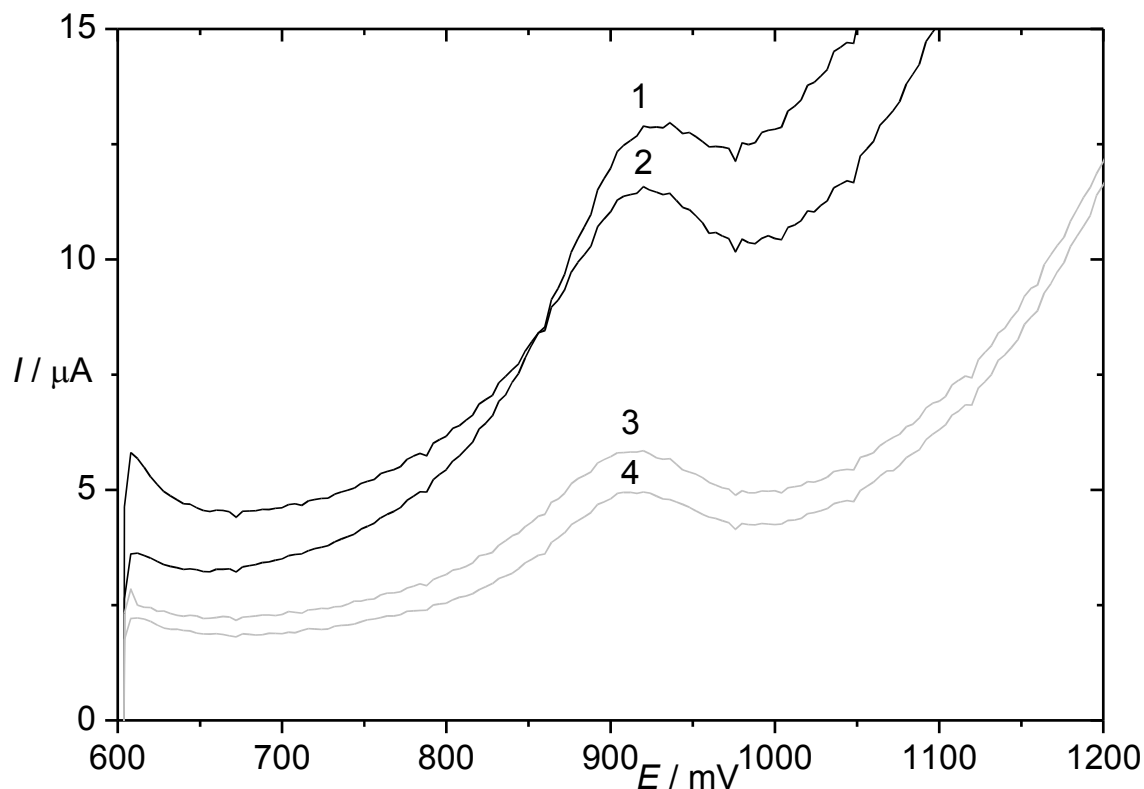
**Obr. 3.11** Krabicové grafy výšek píků 4-nitrofenolu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru o pH 10, naměřené na elektrodách s různou úpravou podkladového materiálu, spočtené z deseti měření. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.4.3 Pasivace na CFRE a CF/CFRE

Pro zjištění, zda lze následky pasivace na elektrodě odstranit mícháním roztoku mezi měřeními, byl připraven roztok 4NP o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru o pH 10. Mezi každým proměřením voltametrické křivky bylo zařazeno 10-ti sekundové míchání.

Při měření na CFRE a CF/CFRE lze pozorovat, že první měřená křivka je vyšší, než následující o 5-15 % (Obr. 3.11). Černá křivka znázorňuje voltametrický záznam na CFRE elektrodě a šedá na CF/CFRE.

Relativní směrodatnou odchylku při 10s míchání mezi měřeními vykazuje CFRE 2,8% a CF/CFRE 2,1% z deseti po sobě jdoucích měření.



**Obr. 3.12** Anodické DP voltamogramy 4-nitrofenolu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru pH 10 na CFRE bez uhlíkového filmu a s uhlíkovým filmem. První křivka (1, 3) se vždy lišila průběhem od druhé (2, 4), kterou pak následné křivky opisovaly. Křivky 1 a 2 odpovídají voltamogramům naměřených na CFRE, 3 a 4 na mCF/CFRE. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



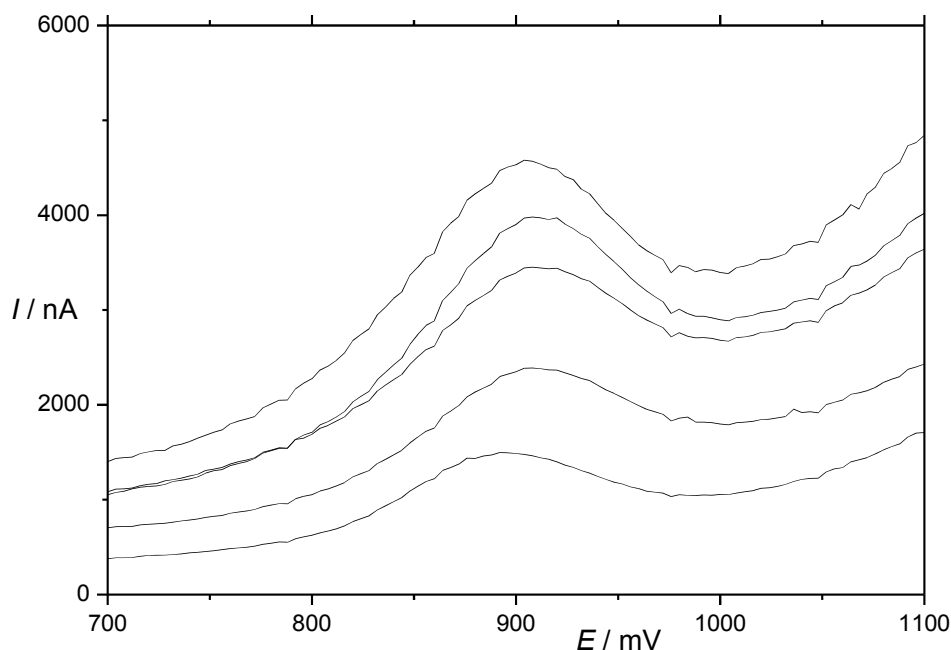
### 3.4.4 Oplach methanolem

Jak již bylo nastíněno v kapitole 1.4 o struktuře uhlíkového filmu, snímky SEM lze interpretovat tak, že polystyren obaluje skelné mikrokuličky tenkou vrstvou a může tak znesnadňovat akumulaci na povrch či mezi vrstvy jílu. Podobně tomu je i u šupinek grafitu. Odstraněním vrchní vrstvy polystyrenu mechanicky nemůžeme vzít v úvahu, ale lze jej zkusit rozpustit organickým rozpouštědlem před měřením. V návaznosti na to je třeba také zjistit, zda nenaruší přítomnost organického rozpouštědla v elektrolytu pevnost filmu.

Byla prováděna měření s testováním efektu oplachu uhlíkového filmu ve zředěném organickém rozpouštědle a také měření v roztocích s různou koncentrací methanolu.

Při pokusech s měřením v organických rozpouštědlech byl objeven problém s naleptáním epoxidu na boku elektrody a jeho následným mechanickým odstraněním v důsledku běžné manipulace s elektrodou při odstraňování uhlíkového filmu. Poškozením elektrodového těla je zvětšena aktivní plocha elektrody a vyznačuje se tedy zvětšeným signálem i nápadně vysokým pozadím. Obr. 3.13 ukazuje voltamogramy tří různých elektrod, které během manipulace doznaly různého stupně poškození. Při porovnání proudu pozadí je rozdíl mezi výškami píků až dvojnásobný, a výška pozadí též zhruba dvojnásobná.

Z těchto důvodů jsme upustili od dalšího měření na tomto podkladovém materiálu a další měření byla prováděna na elektrodě za skelného uhlíku.



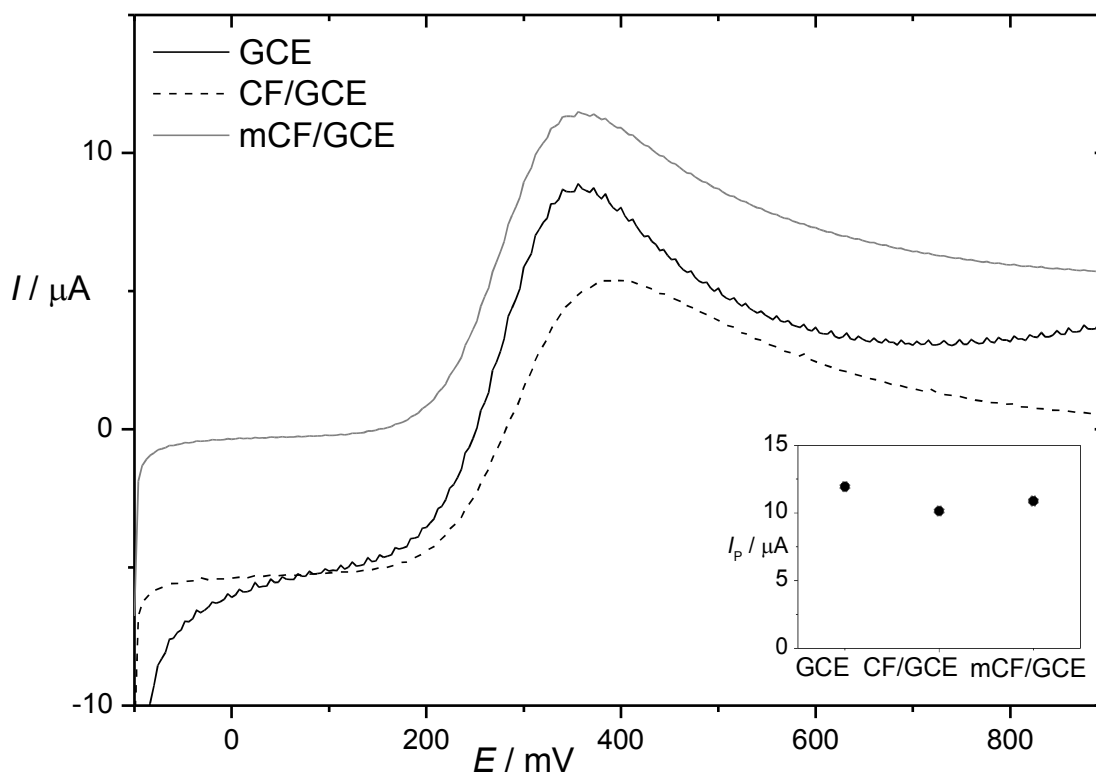
**Obr. 3.13** Anodické DP voltamogramy 4-nitrofenolu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí Brittonova-Robinsonova pufru o pH 10. Křivky jsou naměřeny na různých elektrodách s různým stupněm poškození pláště. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.5 Optimalizace metody stanovení 4-nitrofenolu voltametricky na CF/GCE a mCF/GCE

#### 3.5.1 Srovnání GCE, CF/GCE a mCF/GCE ve ferro-ferri systému

Pro získání základní informace o chování GCE jako podkladového materiálu a ovlivnění průběh křivky přítomností naneseného filmu byla použita metoda lineárního skenu v roztoku hexakynoželeznanu draselného o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  chloridu draselného, přičemž byly testovány elektrody bez CF, s CF a s mCF (Obr. 3.14). Odečtené výšky píků z těchto voltamografů jsou znázorněny ve vloženém grafu.

Zatímco křivka změřená bez použití uhlíkového filmu předpokladaně vykazuje větší reverzibilitu, zajímavý je pokles proudu pozadí po nanesení uhlíkového filmu, zřejmě v souvislosti s charakterem elektrody jako pole mikroelektrod.



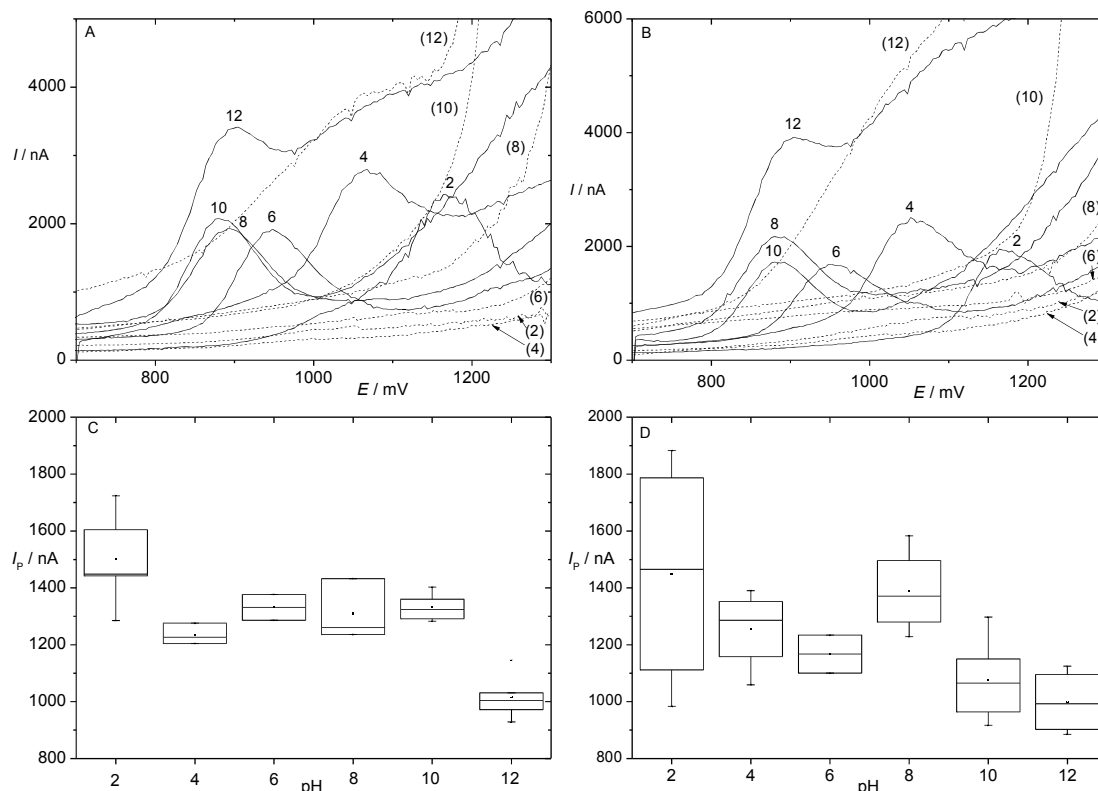
**Obr. 3.14** Anodické LS voltamogramy hexakynoželeznanu draselného o koncentraci  $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí jednomolárního chloridu draselného. Elektroda ze skelného uhlíku bez uhlíkového filmu (černá), a s jílem uhlíkovým filmem (šedá) a s modifikovaným uhlíkovým filmem (čárkovaná). Podmínky LSV: rychlost polarizace  $100 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ .

### 3.5.2 Vliv pH

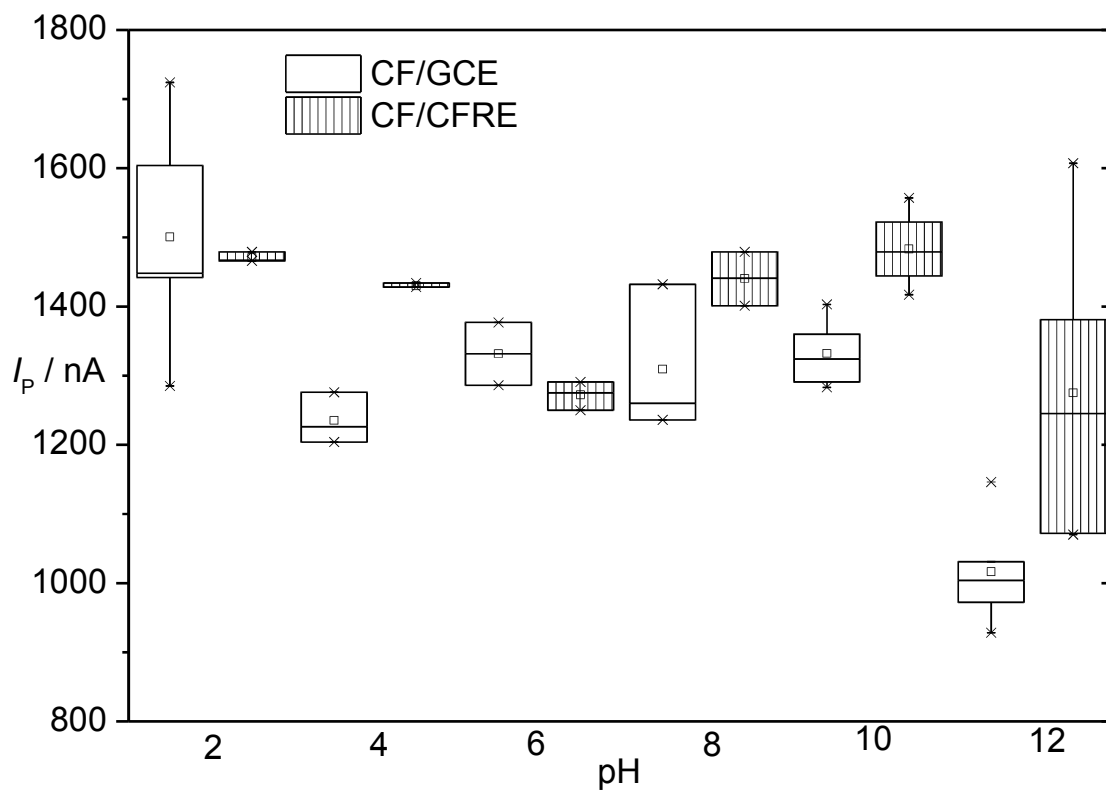
Pro ověření obdobného chování 4NP na filmech nanesených na obou podkladových elektrodách a rovněž na filmech modifikovaných a nemodifikovaných byla i na CF/GCE změřena série měření při různém pH BR pufru.

Získané výsledky jsou obdobné jako výsledky získané na CF/CFRE (Obr 3.9), tedy jeden pík v celé škále pH, jehož potenciál se se zvyšujícím pH posouvá k nižším hodnotám a od pH 8 zůstává stálý. I výšky píků jsou srovnatelné (Obr. 3.16).

Z hlediska polohy i výšky píku se měření s filmem modifikovaným přídavkem jílu neliší od měření s filmem nemodifikovaným (Obr. 3.16).



**Obr 3.15** Anodické DP voltamogramy 4-nitrofenolu o koncentraci  $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru na nemodifikovaném (A) a modifikovaném (B) uhlíkovém filmu. Číslo křivky odpovídá pH pufru. Čísla čárkovaných křivek (v závorce) označují voltamogram základního elektrolytu při daném pH. Graf C je krabicový diagram výšky píků při daném pH naměřených na CF/GCE elektrodě a D krabicový graf výšky píků při daném pH naměřených na CF/GCE elektrodě. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

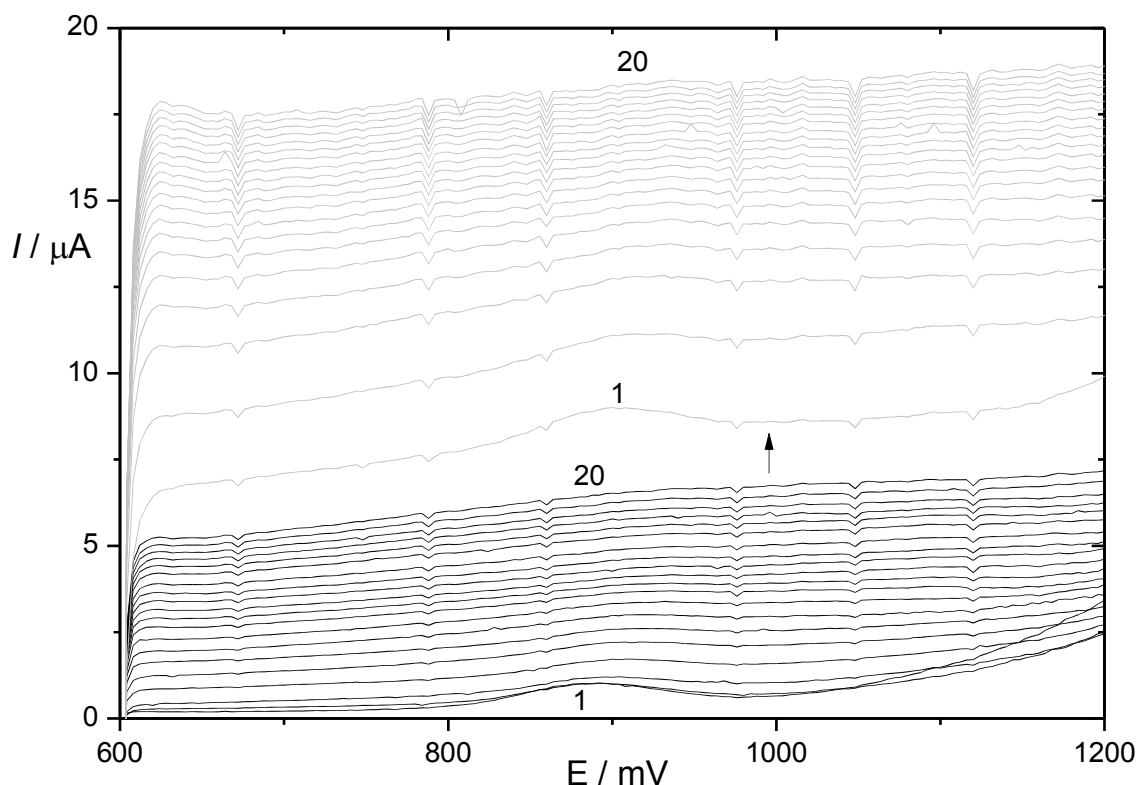


**Obr. 3. 16** Krabicový diagram výšek píků 4-nitrofenolu při daném pH naměřených metodou DPV na stejném uhlíkovém filmu a různých podkladových materiálech. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

### 3.5.3 Pasivace

Technikou DPV byla změřena opakovatelnost dvaceti po sobě jdoucích měření v rozsahu potenciálů 600 až 1200 mV bez obnovy uhlíkového filmu. Na Obr. 3.17 jsou znázorněny voltamogramy dvaceti měření v roztoku 4NP o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  na CF/GCE (černé křivky) a mCF/GCE (šedé). Mezi každým měřením byl roztok 10s míchán.

Pozadí s každou další naměřenou křivkou stoupalo a pík se zmenšoval. U mCF výška píku klesla z 550 nA na 450 nA (změna o 18%). U CF klesl pík z 600 nA na 470 nA (změna o 22%). Vzhledem ke zřetelné pasivaci bylo i nadále každé měření prováděno na nově naneseném uhlíkovém filmu.



**Obr 3.17** Anodické DP voltamogramy 4-nitrofenolu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru pH 10 na nemodifikovaném a modifikovaném uhlíkovém filmu. Vždy bylo naměřeno 20 po sobě jdoucích křivek, jejichž pozadí stoupalo. Voltamogramy naměřené na CF/GCE odpovídají šedým křivkám, voltamogramy naměřené na mCF/GCE černým křivkám. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

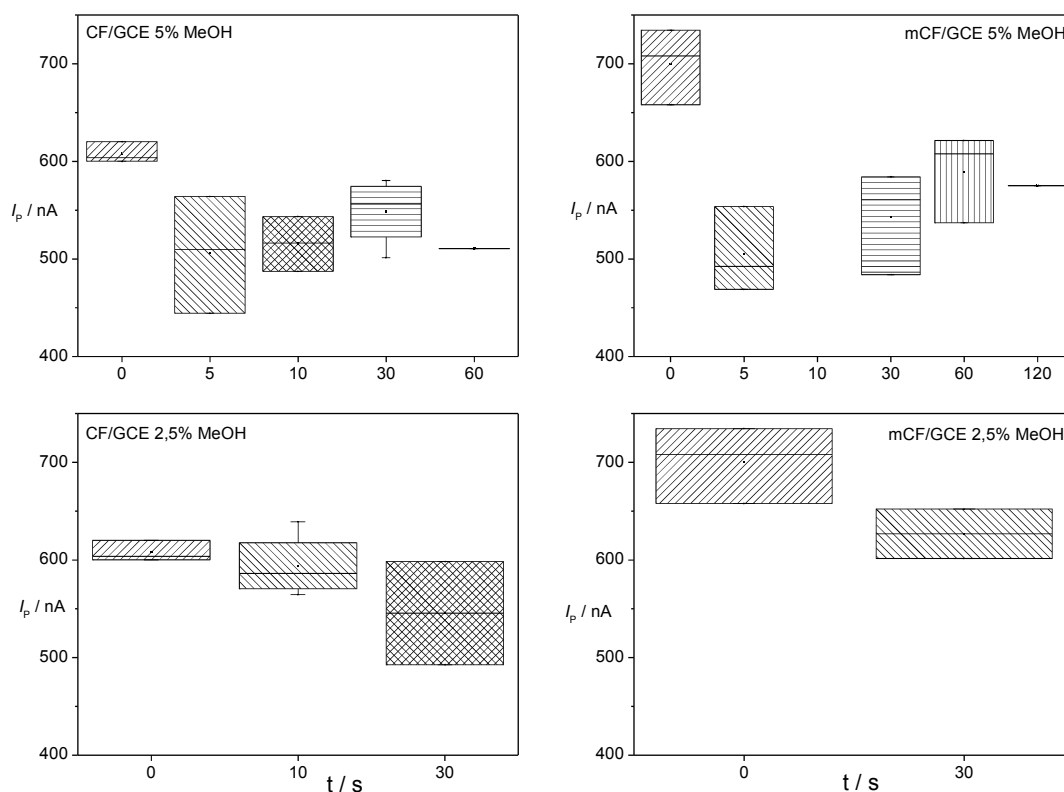
### 3.5.4 Opakovatelnost nanášení CF na GCE

Bylo provedeno měření ke zjištění opakovatelnosti nanášení uhlíkového filmu na podkladovou elektrodu ze skelného uhlíku. K tomuto účelu byl připraven roztok o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  4NP v BR pufru o pH 10 a bylo provedeno stanovení metodou DPV. Směrodatná odchylka deseti po sobě jdoucích měření byla 10,0 %, čili obdobná hodnota jako při nanášení filmu na CFRE.

### 3.5.5 Oplach methanolem

Byl připraven roztok o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  4NP v BR pufru o pH 10 a dva roztoky o rozdílné koncentraci methanolu. Před samotným voltametrickým stanovením byla voltametrická nádobka s analytem vyměněna za nádobku s methanolem a bylo zapnuto intenzivní míchání. Po uplynutí dané doby byla znovu vyměněna voltametrická nádobka a bylo provedené voltametrické měření.

Výsledky měření jsou znázorněny na Obr 3.18 a svědčí o tom, že oplach elektrody methanolem měl na odezvu malý vliv a pokud se již projevil, pak spíše negativně. K makroskopickému porušení elektrody nedocházelo.



**Obr. 3.18** Krabicové grafy výšek píků anodických voltamogramů 4-nitrofenolu o koncentraci  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru pH 10 po oplachu elektrody na nemodifikovaném a modifikovaném uhlíkovém filmu. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

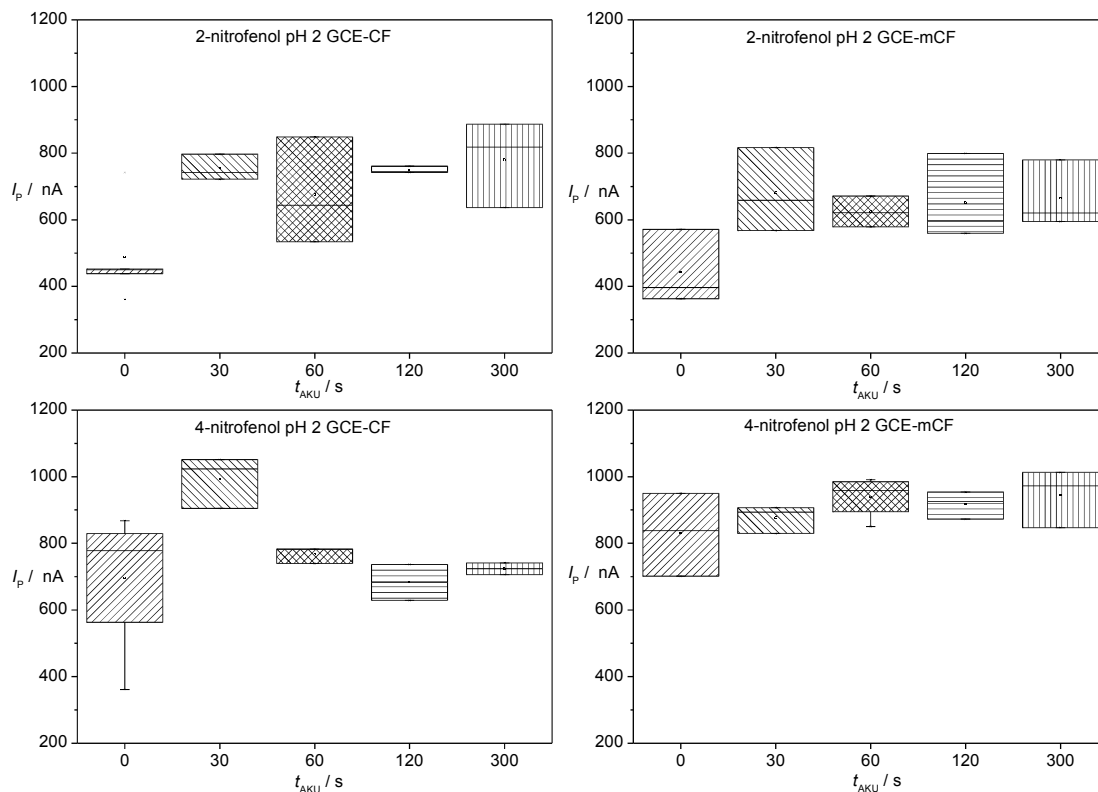
### 3.5.6 Možnosti akumulace

Předpokládaným přínosem modifikace elektrod jílovými materiály spočívá v možnosti akumulace analytu jeho sorpcí či interkalací a tím zvýšení signálu elektrody. Obdobný efekt nicméně může nastat i akumulací na povrch grafitu nebo polystyrenu. Proto byla provedena měření na CF i mCF s 2NP a 4NP (Obr. 3.19, Obr. 3.20, Obr. 3.21, Obr. 3.22, Obr. 3.23 a Obr. 3.24).

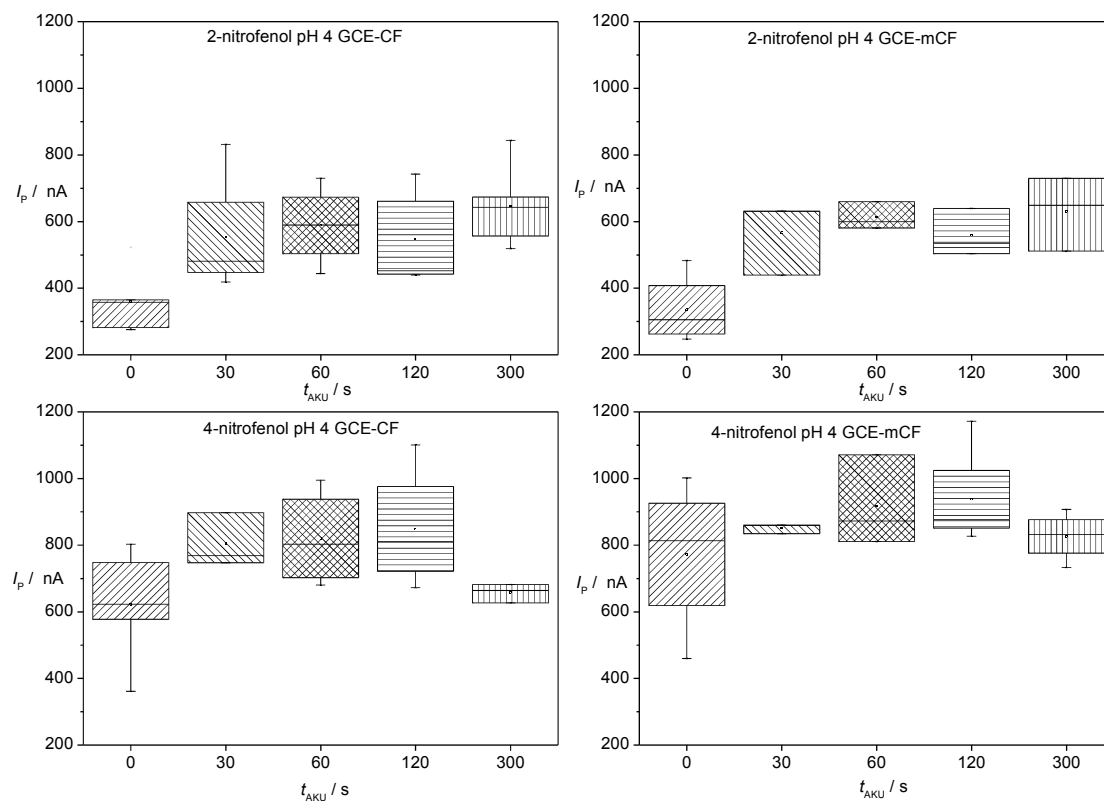
Protože je míra sorpce závislá na pH, bylo provedeno měření adsorpce analytů při různých pH s akumulací časy 0, 30, 60, 120 a 300 sekund.

Akumulace se projevila jen u některých hodnot pH. Velikost signálu se u 2NP zdvojnásobila u pH 2, 4, 6 i 8. Naopak u pH 12 dokonce snižuje odezvu. Velikost signálu 4NP stoupá u pH 2, 4 a 10.

Akumulace je příznivá z hlediska stanovení analytu, ale takto malý nárůst neprokazuje pozitivní vliv MMT, protože k akumulaci dochází i na čistém CF. Nebyla prokázána zvýšená adsorpce na MMT při očekávaném pH. Zvýšené množství MMT v mCF bylo zkoumáno (1:1), ale docházelo k rozpínání vrstev MMT a rozpadu mCF.

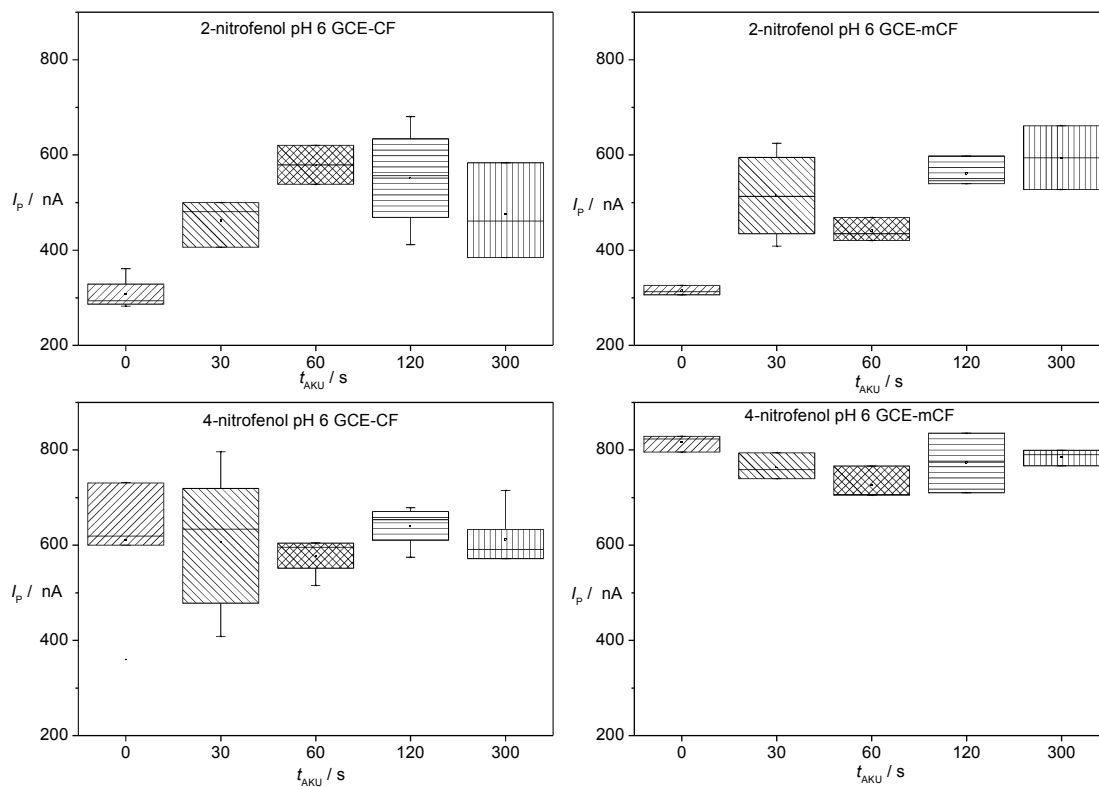


**Obr. 3.19** Závislost výšky píky 2NP a 4NP na akumulacím čase při pH 2. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

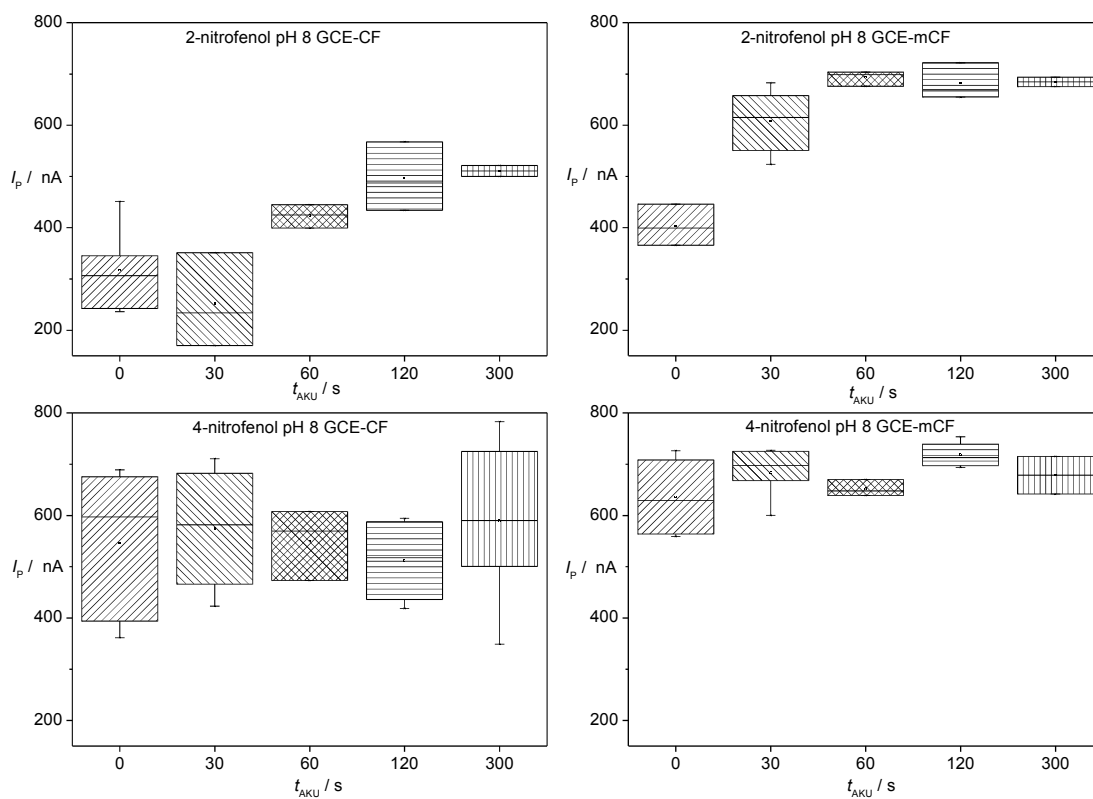


**Obr. 3.19** Krabicové grafy závislosti výšky píků 2NP a 4NP na akumulacním čase při pH 4. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

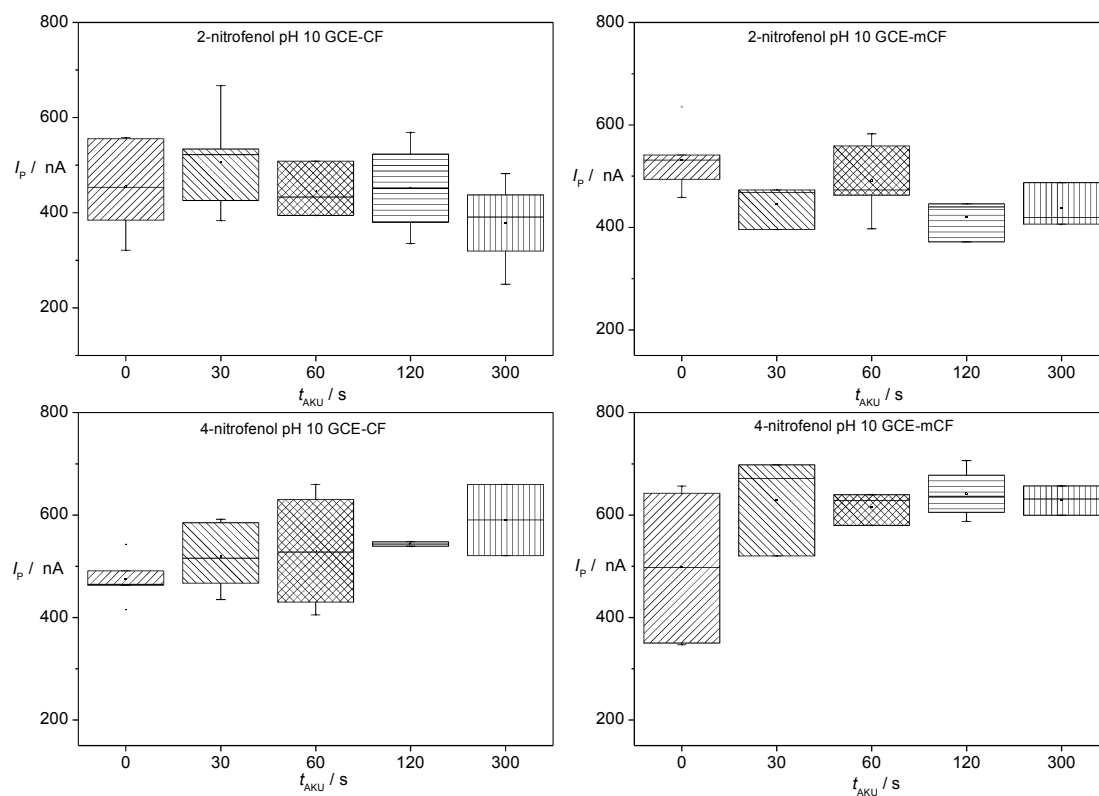




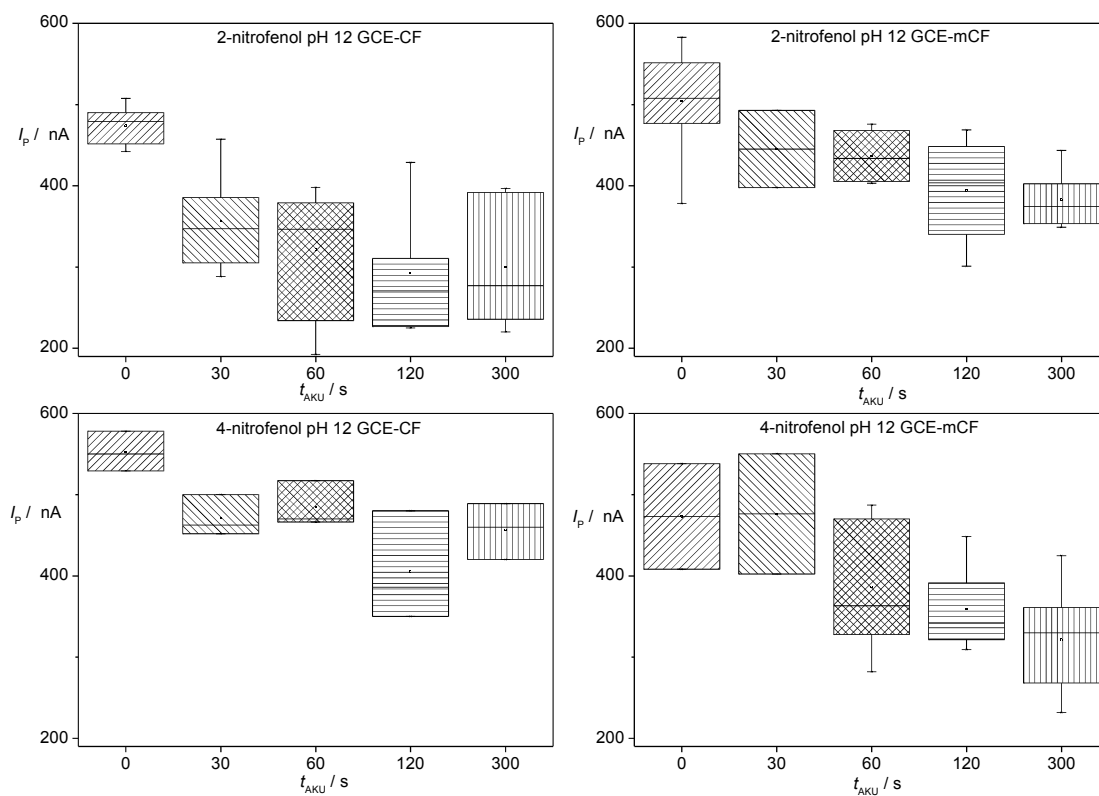
**Obr. 3.20** Krabicové grafy závislosti výšky píků 2NP a 4NP na akumulacním čase při pH 6. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.21** Krabicové grafy závislosti výšky píků 2NP a 4NP na akumulčním čase při pH 8. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.22** Krabicové grafy závislosti výšky píků 2NP a 4NP na akumulacním čase při pH 10. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.



**Obr. 3.23** Krabicové grafy závislosti výšky píků 2NP a 4NP na akumulčním čase při pH 12. Koncentrace analytu  $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  v prostředí BR pufru. Podmínky DPV: rychlost polarizace  $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$ , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms.

## 4. Závěr

Byla vyvrácena spojitost mezi rozdělovacím n-oktanol/voda a rozdělovacím koeficientem minerální olej/voda, a tím osvětlena možnost akumulace analytů na uhlíkovou pastovou elektrodu. Rozdělovací koeficienty minerální olej/voda byly sanoveny na  $D_{2NP} = 22,0$ ,  $D_{24DNP} = 6$  a pro 4NP a 246TNP nelze určit.

Byla vyjádřena míra sorpce 2NP a 4NP adsorpčním koeficientem, který je závislý na pH.  $K_{d,2NP,pH2} = 20,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-3}$ ,  $K_{d,4NP,pH2} = 0,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-3}$  a  $K_{d,24DNP,pH10} = 10,3 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-3}$ .

Z nasnímkovaného uhlíkového filmu rastrovým elektronovým mikroskopem bylo zjištěno, že vlákna polystyrenu spojují přítomné částice a MMT je rovnoměrně rozptostřen v CF – na povrchu i ve filmu.

Nanesení uhlíkového filmu na CFRE snížilo šum a proudové pozadí, což usnadňuje jejich odečítání. Relativní směrodatná odchylka nanášení filmu na CFRE činí 9,2 %. Mezi měřeními 4NP při pH 10 lze odstranit pasivaci 10 sekundovým mícháním roztoku. Pak je hodnota relativní směrodatné odchylky 2,1%. Byla dána přednost GCE před CFRE z důvodu odhalení vodivých částí během experimentálních měření v methanolickém prostředí.

Na CF/GCE a mCF/GCE byla proměřena pH závislost a byly srovnány s výsledky naměřenými na CF/CFRE. Mezi výsledky naměřenými na CF/GCE a na CF/CFRE není významný rozdíl. Bylo tedy potvrzeno, že nanesením filmu jsou vlastnosti původní elektrody eliminovány, pokud uhlíkový film dobře ulpí na podkladu. Byla ověřena pasivace na CF/GCE, ke které docházelo a relativní směrodatná odchylka obnovování povrchu činila 10,0% a byla srovnatelná s obnovováním povrchu na CFRE.

Na závěr byla ověřena možnost a míra akumulace 2NP a 4NP. Protože jsme si ověřili, že je adsorpční koeficient závislý na pH, bylo nutné proměřit akumulační závislosti při pH 2, 4, 6, 8, 10 i 12. Akumulace se projevila více jak dvojnásobným rozdílem výšek píků a tedy významná pro analytická stanovení. 2NP se akumuloval u pH 2 až 8. 4NP u pH 2, 4 a 10. Akumulace probíhala na CF i na mCF a tedy nebyla prokázána zvýšená adsorpce na MMT při očekávaném pH.

Výsledky v práci Mgr. Zuzany Hranické [64] jsou v souladu s kapitolou 3.1.1 a lze pomocí disociační konstanty minerální olej/voda (o určitém pH) určit, které látky půjde selektivně akumulovat na povrch, respektive do pastovací kapaliny uhlíkové pastové elektrody.

## 5. Literatura

1. B. Yosypchuk, J. Barek, M. Fojta: Carbon Powder Based Films on Traditional Solid Electrodes as an Alternative to Disposable Electrodes. *Electroanalysis* **18**: 11, 1126-1130, (2006).
2. I. Jiránek, J. Barek: *Book of Proceedings – 4th International Student Conference: Modern Analytical Chemistry 2008*. Prague, Czech republic, Jiří G. K. Ševčík – Consultancy 2008, s. 153-157
3. V. Vyskočil, J. Barek: Voltammetric DNA Biosensor Based on a Microcrystalline Natural Graphite–Polystyrene Composite Transducer. *Procedia Chemistry* **6**: 0, 52-59, (2012); H. Šmejkalová: Voltammetrické stanovení 4-nitrofenolu na velkoplošné uhlíkové filmové elektrodě. *Bakalářská práce*, Univerzita Karlova v Praze, Praha, 2011.
4. Y. Peng, C. Lu, B. Hu, Z. Wang, S. Hu: Development of an acetylspiramycin sensor based on a single-walled carbon nanotubes film electrode. *Microchimica Acta* **158**: 1/2, 79-84, (2007).
5. J. Wang: Analytical Electrochemistry. *John Wiley* (2006).
6. K. Kalcher, I. Svancara, M. Buzuk, K. Vytras, A. Walcarius: Electrochemical sensors and biosensors based on heterogeneous carbon materials. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* **140**: 8, 861-889, (2009).
7. N. Thiyagarajan, J.-L. Chang, K. Senthilkumar, J.-M. Zen: Disposable electrochemical sensors: A mini review. *Electrochemical Communications* **38**: 0, 86-90, (2014); J.-M. Zen, A. Senthil Kumar, D.-M. Tsai: Recent Updates of Chemically Modified Electrodes in Analytical Chemistry. *Electroanalysis* **15**: 13, 1073-1087, (2003).
8. A. L. Beilby, A. Carlsson: A pyrolytic carbon film electrode for voltammetry: Part V. characterization and comparison with the glassy carbon electrode by electrochemical pretreatment in basic solution. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* **248**: 2, 283-304, (1988).
9. M. Hadi, A. Rouhollahi, M. Yousefi: Pyrolytic carbon film deposit as an electrochemical interface. *Carbon Science and Technology* **2**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 93-97, (2009).
10. M. Hadi, A. Rouhollahi, M. Yousefi, F. Taidy, R. Malekfar: Electrochemical characterization of a pyrolytic carbon film electrode and the effect of anodization. *Electroanalysis* **18**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 787-792, (2006).
11. M. Hadi, A. Rouhollahi: Application of nanocrystalline graphite-like pyrolytic carbon film electrode for determination of thiols. *Electrochimica Acta* **58**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 647-653, (2011).
12. M. Hadi, A. Rouhollahi, M. Yousefi: Nanocrystalline graphite-like pyrolytic carbon film electrode for electrochemical sensing of hydrazine. *Sensors and Actuators, B* **160**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 121-128, (2011).
13. M. Hadi, A. Rouhollahi, M. Yousefi: Direct Electrooxidation of Ascorbic Acid at the Nanocrystalline Graphite-like Pyrolytic Carbon Film Electrode. *Electroanalysis* **23**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved, 1497-1505, (2011).

14. M. Hadi, A. Rouhollahi: Simultaneous electrochemical sensing of ascorbic acid, dopamine and uric acid at anodized nanocrystalline graphite-like pyrolytic carbon film electrode. *Analytica Chimica Acta* **721**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 55-60, (2012).
15. M. Hadi, A. Rouhollahi: Filamentous pyrolytic carbon film and its electroanalytical properties. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **727**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 13-20, (2014).
16. H. Jiang, L. Huang, Z. Zhang, T. Xu, W. Liu: Facile deposition of copper-doped diamond-like carbon nanocomposite films by a liquid-phase electrochemical route. *Chemical Communications* **19**, 2196-2197, (2004); B. J. Hathaway, D. G. Holah, J. D. Postlethwaite: 630. The preparation and properties of some tetrakis(methylcyanide)copper(I) complexes. *Journal of the Chemical Society (Resumed)* **0**, 3215-3218, (1961).
17. J.-M. Ting, H. Lee: DLC composite thin films by sputter deposition. *Diamond and Related Materials* **11**: 3-6, 1119-1123, (2002).
18. X. Ling, P. Zhang, R. Li, D. Fan, X. Yao: Electron field emission of iron and cobalt-doped DLC films fabricated by electrochemical deposition. *Surface and Interface Analysis* **45**: 5, 943-948, (2013).
19. R. S. Nicholson, I. Shain: Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems. *Analytical Chemistry* **36**: 4, 706-723, (1964).
20. C. M. A. Brett, A. M. O. Brett: *Electrochemistry: Principles, Methods, and Applications*. Oxford University Press, Incorporated 1993
21. K. E. Creasy, B. R. Shaw: Polishable modified carbon fiber composite electrodes containing copolymers of (vinylferrocene) or (vinylpyridine) in a cross-linked polystyrene matrix. *Analytical Chemistry* **61**: 13, 1460-1465, (1989).
22. S. Fletcher, M. D. Horne: Random assemblies of microelectrodes (RAM<sup>TM</sup> electrodes) for electrochemical studies. *Electrochemical Communications* **1**: 10, 502-512, (1999).
23. M. Vnouček: *Kompozitní materiály*. Dostupné z: [http://web.archive.org/web/20131208150703/http://stefanmichna.com/download/technicke-materialy\\_II/kompozitni\\_materialy.pdf](http://web.archive.org/web/20131208150703/http://stefanmichna.com/download/technicke-materialy_II/kompozitni_materialy.pdf) [cit. 15. 6. 2014]
24. Z. Kořínek: *Technologie výroby kompozitů*. Dostupné z: <http://mujweb.cz/zkorinek/technologie.pdf> [cit. 14. 6. 2014]
25. X. Xu, S. G. Weber: Carbon fiber/epoxy composite ring-disk electrode: Fabrication, characterization and application to electrochemical detection in capillary high performance liquid chromatography. *Journal of Electroanalytical Chemistry* **630**: 1-2, 75-80, (2009).
26. D. Baval: Prozkoumání možnosti využití uhlíkové kompozitní elektrody jako disposabilního senzoru při stanovení pesticidu. *Diplomová práce*, Univerzita Karlova v Praze, Praha, 2013.
27. B. Ogorevc, X. H. Cai, I. Grabec: Determination of traces of copper by anodic-stripping voltammetry after its preconcentration via an ion-exchange route at carbon-paste electrodes modified with vermiculite. *Analytica Chimica Acta* **305**: 1-3, 176-182, (1995).
28. Z. Navratilova, P. Wojtowicz, L. Vaculikova, V. Sugarkova: Sorption of alkylammonium cations on montmorillonite. *Acta Geodynamica Et Geomaterialia* **4**: 3, 59-

- 65, (2007); W. F. Jaynes, G. F. Vance: Sorption of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene (BTEX) compounds by hectorite clays exchanged with aromatic organic cations. *Clays Clay Miner.* **47**: Copyright (C) 2013 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 358-365, (1999).
29. W. S. Huang, D. Z. Zhou, X. P. Liu, X. J. Zheng: Electrochemical determination of phenol using CTAB-functionalized montmorillonite electrode. *Environmental Technology* **30**: 7, 701-706, (2009).
30. C. T. Chiou, D. W. Rutherford: Effects of exchanged cation and layer charge on the sorption of water and EGME vapors on montmorillonite clays. *Clays and Clay Minerals* **45**: 6, 867-880, (1997).
31. M. A. M. Lawrence, R. K. Kukkadapu, S. A. Boyd: Adsorption of phenol and chlorinated phenols from aqueous solution by tetramethylammonium- and tetramethylphosphonium-exchanged montmorillonite. *Applied Clay Science* **13**: 1, 13-20, (1998).
32. Y.-p. Luo, S.-f. Zhao, G.-x. Pan, L.-f. Huang, D.-f. Huang, C.-n. Chen, L.-j. Gu: Preparation of clay based slow-release fertilizers containing nitrogen, phosphorus and potassium and its release characteristics. *Anhui Nongye Kexue* **40**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 813-816, (2012); A. J. Saunders: *A fertilizer composition containing a plant nutrient and method for producing it as granules with improved strength*, AU, Pat WO2012065214A1.
33. J. L. Miranda Valencia: *Clay-supported fertilizer containing secondary nutrients and micronutrients*, Pat MX2008014315A.
34. H. G. Franke: *Agent and methods for cultivation and recultivation of nutrient-poor, dry soils*, Pat DE2920854A1.
35. S. Wang, L. Shi, Q. Xie, C. Zhang: *Method for planting grape in droughty desert*, Pat CN101099441A.
36. M. J. Sanchez-Martin, M. S. Rodriguez-Cruz, M. S. Andrades, M. Sanchez-Camazano: Efficiency of different clay minerals modified with a cationic surfactant in the adsorption of pesticides: Influence of clay type and pesticide hydrophobicity. *Applied Clay Science* **31**: 3-4, 216-228, (2006).
37. L. P. Meier, R. Nueesch, F. T. Madsen: Organic Pillared Clays. *Journal of Colloid and Interface Science* **238**: 1, 24-32, (2001).
38. C.-H. Zhou, Z.-F. Shen, L.-H. Liu, S.-M. Liu: Preparation and functionality of clay-containing films. *Journal of Materials Chemistry* **21**: Copyright (C) 2013 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 15132-15153, (2011).
39. C. J. Song, G. Villemure: Effect of decreasing film thickness on the electrochemical responses of cations adsorbed in clay-modified electrodes. *Electrochimica Acta* **52**: 23, 6509-6516, (2007).
40. E. Fuguet, C. Rafols, E. Bosch, M. Roses: A Fast Method for pKa Determination by Capillary Electrophoresis. *Chemical Biodiversity* **6**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1822-1827, (2009).
41. ATSDR: *Toxicological profile for nitrophenols: 2-nitrophenol, 4-nitrophenol*, U.S. Public Health Service 1992



42. C. A. de Lima, P. S. da Silva, A. Spinelli: Chitosan-stabilized silver nanoparticles for voltammetric detection of nitrocompounds. *Sensors and Actuators, B* **196**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 39-45, (2014).
43. J. Fischer, L. Vanourkova, A. Danhel, V. Vyskocil, K. Cizek, J. Barek, K. Peckova, B. Yosypchuk, T. Navratil: Voltammetric determination of nitrophenols at a silver solid amalgam electrode. *International Journal of Electrochemical Science* **2**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 226-234, (2007).
44. V. A. Pedrosa, H. B. Suffredini, L. Codognoto, S. T. Tanimoto, S. A. S. Machado, L. A. Avaca: Carbon surfaces for electroanalytical applications: A comparative study. *Analytical Letters* **38**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1115-1125, (2005).
45. K. Asadpour-Zeynali, P. Najafi-Marandi: Bismuth modified disposable pencil-lead electrode for simultaneous determination of 2-nitrophenol and 4-nitrophenol by net analyte signal standard addition method. *Electroanalysis* **23**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 2241-2247, (2011).
46. P. Deng, Z. Xu, J. Li: Simultaneous voltammetric determination of 2-nitrophenol and 4-nitrophenol based on an acetylene black paste electrode modified with a graphene-chitosan composite. *Microchimica Acta* **181**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1077-1084, (2014).
47. Y. Lei, G. Zhao, M. Liu, X. Xiao, Y. Tang, D. Li: Simple and feasible simultaneous determination of three phenolic pollutants on boron-doped diamond film electrode. *Electroanalysis* **19**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1933-1938, (2007).
48. A. Danhel, K. K. Shiu, B. Yosypchuk, J. Barek, K. Peckova, V. Vyskocil: The use of silver solid amalgam working electrode for determination of nitrophenols by HPLC with electrochemical detection. *Electroanalysis* **21**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 303-308, (2009).
49. M. Teich, D. Pinxteren, H. Herrmann: Determination of nitrophenolic compounds from atmospheric particles using hollow-fiber liquid-phase microextraction and capillary electrophoresis/mass spectrometry analysis. *Electrophoresis* **35**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1353-1361, (2014).
50. F. Zhu, M.-z. Tu, L.-l. Wang, D.-w. Shi, M.-k. Wang: Simultaneous determination of ten phenols in textiles by high performance liquid chromatography. *Fenxi Ceshi Xuebao* **32**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 336-340, (2013).
51. E. S. Oliveira, P. A. Fiorito, H. B. Suffredini: Single oil drop electrochemistry on a screen-printed electrode surface. *Electroanalysis* **26**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1660-1663, (2014).
52. C. Karuppiah, S. Palanisamy, S.-M. Chen, R. Emmanuel, M. A. Ali, P. Muthukrishnan, P. Prakash, F. M. A. Al-Hemaid: Green biosynthesis of silver nanoparticles and nanomolar detection of p-nitrophenol. *Journal of Solid State Electrochemistry* **18**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 1847-1854, (2014).
53. M. M. Rahman, S. B. Khan, A. M. Asiri, A. G. Al-Sehemi: Chemical sensor

development based on polycrystalline gold electrode embedded low-dimensional Ag<sub>2</sub>O nanoparticles. *Electrochimica Acta* **112**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 422-430, (2013).

54. M. J. Zunic, A. D. Milutinovic-Nikolic, D. M. Stankovic, D. D. Manojlovic, N. P. Jovic-Jovicic, P. T. Bankovic, Z. D. Mojovic, D. M. Jovanovic: Electrooxidation of p-nitrophenol using a composite organo-smectite clay glassy carbon electrode. *Applied Surface Science* **313**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 440-448, (2014).

55. B. Liu, T. Wang, C. Yin, Z. Wei: Electrochemical analysis of p-nitrophenol in acidic or alkaline medium using silver nanoparticle decorated multi-walled carbon nanotubes. *Journal of Applied Material Science* **49**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 5398-5405, (2014).

56. B. Devadas, M. Rajkumar, S.-M. Chen, P.-C. Yeh: A novel voltammetric p-nitrophenol sensor based on ZrO<sub>2</sub> nanoparticles incorporated into a multiwalled carbon nanotube modified glassy carbon electrode. *Analytical Methods* **6**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 4686-4691, (2014).

57. K. Nejadi, K. Asadpour-Zeynali, Z. Rezvani, R. Peyghami: Determination of 2-nitrophenol by electrochemical synthesized Mg/Fe layered double hydroxide sensor. *Int. J. Electrochemical Science* **9**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 5222-5234, 13 pp., (2014).

58. N. Lezi, A. Economou, J. Barek, M. Prodromidis: Screen-Printed Disposable Sensors Modified with Bismuth Precursors for Rapid Voltammetric Determination of 3 Ecotoxic Nitrophenols. *Electroanalysis* **26**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 766-775, (2014).

59. J. A. Harper, K. Dickinson, M. D. Brand: Mitochondrial uncoupling as a target for drug development for the treatment of obesity. *Obesity Reviews* **2**: 4, 255-265, (2001).

60. N. J. D. o. Health: *Hazardous Substance Fact Sheet: 2,4,6-trinitrophenol*. New Jersey, New Jersey Department of Health 2010

61. N. J. D. o. Health: *Hazardous Substance Fact Sheet: 2,4-dinitrophenol*. New Jersey, New Jersey Department of Health 1999

62. J. Musilova, J. Barek, K. Peckova: Use of boron-doped diamond film electrodes for detection of organic compounds. *Chemické Listy* **103**: Copyright (C) 2014 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved., 469-478, (2009).

63. S. Angioi, S. Polati, M. Roz, C. Rinaudo, V. Gianotti, M. C. Gennaro: Sorption studies of chloroanilines on kaolinite and montmorillonite. *Environmental Pollution* **134**: 1, 35-43, (2005).

64. Z. Hranická: Stanovení vybraných nitrofenolů na modifikovaných uhlíkových pastových elektrodách. *Diplomová práce*, Univerzita Karlova v Praze, Praha, 2010.

65. M. H. Abraham, C. M. Du, J. A. Platts: Lipophilicity of the Nitrophenols. *The Journal of Organic Chemistry* **65**: 21, 7114-7118, (2000).

66. D. Mackay, W. Y. Shiu, K. C. Ma, S. C. Lee: *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals, Second Edition*. Taylor & Francis 2006