

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Analytická chemie



Bc. Markéta Krejčová

STANOVENÍ BUTYLHYDROXYANISOLU NA ELEKTRODÁCH
MODIFIKOVANÝCH UHLÍKOVÝMI NANOTRUBIČKAMI

Determination of butylated hydroxyanisole on carbon
nanotubes-modified electrodes

Diplomová práce

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

Praha 2015

Tato diplomová práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury České republiky (projekt P206/12/G151).

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 11. srpna 2015.

Ráda bych touto cestou poděkovala především vedoucí mé diplomové práce RNDr. Haně Dejmkové, Ph.D. za odborné vedení a pomoc, kterou mi v průběhu zpracovávání této práce poskytovala. Dále bych chtěla poděkovat prof. RNDr. Jířímu Zimovi, CSc. a celé laboratoři 112 za ochotu pomoci, kdykoliv to situace vyžadovala. A v neposlední řadě patří velké díky i mé rodině a přátelům za podporu, kterou mi po celou dobu mého studia poskytovali.

Abstrakt

Cílem této práce bylo studium chování potravinového aditiva butylhydroxianisolu na modifikovaných uhlíkových elektrodách pomocí cyklické a diferenční pulzní voltametrie. Byla použita elektroda ze skelného uhlíku a uhlíková pastová elektroda. Jako modifikátor byly zvoleny mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky (MWCNT) v kombinaci s acetonitrilem, nafionem nebo chitosanem pro vytvoření suspenze. Pro modifikaci uhlíkové pastové elektrody nebylo vhodné použít kombinaci uhlíkových nanotrubiček s acetonitrilem, a proto byly pro úpravu jejího aktivního povrchu využity jen nafion a chitosan. V případě elektrody ze skelného uhlíku byly aplikovány všechny tři zmíněné způsoby modifikace.

Butylhydroxyanisol poskytoval na elektrodách modifikovaných uhlíkovými nanotrubičkami se všemi druhy pojiva podstatně vyšší signál než na elektrodách bez takovéto úpravy. Jako nejvýhodnější pro analytické účely se ukázala být elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná filmem obsahující MWCNT společně s acetonitrilem. Tímto způsobem bylo při stanovení butylhydroxyanisolu v porovnání s výše zmíněnými modifikacemi dosaženo nejlépe definovaného a nejvyššího analytického signálu a nižších relativních směrodatných odchylek. Limit detekce butylhydroxyanisolu získaný metodou cyklické voltametrie na takto modifikované elektrodě ze skelného uhlíku činil $1,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$, pro diferenční pulzní voltametrii $3,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$.

Abstract

This work was focused on study of a behaviour of the food additivum butylated hydroxyanisole on modified carbon electrodes by the voltammetric techniques – cyclic and differential pulse voltammetry. Glassy carbon and carbon paste electrode were used. Multiwalled carbon nanotubes (MWCNT) in combination with three different binders (acetonitrile, nafione or chitosane) were employed for the electrode modification. Carbon paste electrode was unable to modificate with film containing carbon nanotubes and acetonitrile, its active surface was treated only with nafione and chitosane film. All three mentioned modifications were applied in case of glassy carbon electrode.

Butylated hydroxyanisole provided a significantly higher signal using electrodes modified with carbon nanotubes with all three binders in contrast to electrodes without any surface modification. The glassy carbon electrode with carbon nanotube / acetonitrile film on its surface appeared to be the most effective for analytical purposes. Voltammetric determination of butylated hydroxyanisole using this electrode provided a better defined and higher analytical signal and lower relative standard deviations in comparison with other ways of modification. The limit of detection of butylated hydroxyanisole obtained by cyclic voltammetry on glassy carbon electrode modified with MWCNT / acetonitrile film was $1,6 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$, for differential pulse voltammetry the value was $3,7 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$.

Klíčová slova

Butylhydroxyanisol

Uhlíkové nanotrubičky

Modifikace elektrod

Elektroda ze skelného uhlíku

Uhlíková pastová elektroda

Cyklická voltametrie

Diferenční pulzní voltametrie

Key words

Butylated hydroxyanisole

Carbon nanotubes

Electrode modification

Glassy carbon electrode

Carbon paste electrode

Cyclic voltammetry

Diferencial pulse voltammetry

Obsah

Seznam použitých zkratk.....	8
1. Úvod.....	10
1.1. Cíl práce	10
1.2. Uhlíkové nanotrubičky.....	11
1.2.1. Způsoby modifikace elektrod ze skelného uhlíku a uhlíkových pastových elektrod pomocí CNT	12
1.2.2. Postupy při modifikaci kompozitních elektrody pomocí CNT	13
1.3. Butylhydroxyanisol.....	15
2. Experimentální část.....	17
2.1. Studovaná látka, ostatní chemikálie.....	17
2.2. Přístrojové vybavení	18
2.3. Pracovní postupy.....	18
2.3.1. Funkcionalizace a čištění MWCNT	18
2.3.2. Příprava filmů pro modifikaci elektrod.....	18
2.3.3. Specifikace použitých metod	19
3. Výsledky a diskuze	21
3.1. Modifikace MWCNT/AcN filmem.....	21
3.1.1. Opakovatelnost stanovení	21
3.1.2. Závislost na pH.....	25
3.1.3. Kalibrační závislost.....	29
3.2. Modifikace MWCNT/Naf filmem	33
3.2.1. Opakovatelnost stanovení	33
3.3. Modifikace MWCNT/Chit filmem	44
3.3.1. Opakovatelnost stanovení	44
3.4. Srovnání odezvy elektrody v závislosti na jejím druhu a modifikátoru	54
4. Závěr	61
Literatura	63

Seznam použitých zkratk

AcN	acetonitril
BHA	butylhydroxyanisol
BR pufr	Britton-Robinsonův pufr
CNT	uhlíkové nanotrubičky (carbon nanotubes)
CPE	uhlíková pastová elektroda (carbon paste electrode)
CPE/MWCNT/Chit	uhlíková pastová elektroda modifikována suspenzí uhlíkových nanotrubiček a chitosanu
CPE/MWCNT/Naf	uhlíková pastová elektroda modifikována suspenzí uhlíkových nanotrubiček a nafionu
Chit	chitosan
CV	cyklická voltametrie
CVD	depozice z plynné fáze (chemical vapour deposition)
DPV	diferenční pulzní voltametrie
GCE	elektroda ze skelného uhlíku (glassy carbon electrode)
GCE/MWCNT/AcN	elektroda ze skleného uhlíku modifikována suspenzí uhlíkových nanotrubiček a acetonitrilu
GCE/MWCNT/Chit	elektroda ze skleného uhlíku modifikována suspenzí uhlíkových nanotrubiček a chitosanu
GCE/MWCNT/Naf	elektroda ze skleného uhlíku modifikována suspenzí uhlíkových nanotrubiček a nafionu
I_p	proud píku analytu
LOD	mez detekce (limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (limit of quantification)

MWCNT	mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky (multi-walled carbon nanotubes)
Naf	nafion
p.a.	pro analýzu
pH	záporný dekadický logaritmus aktivity vodíkových iontů
RSD	relativní směrodatná odchylka
SWCNT	jednostěnné uhlíkové nanotrubičky (single-walled carbon nanotubes)

1. Úvod

1.1. Cíl práce

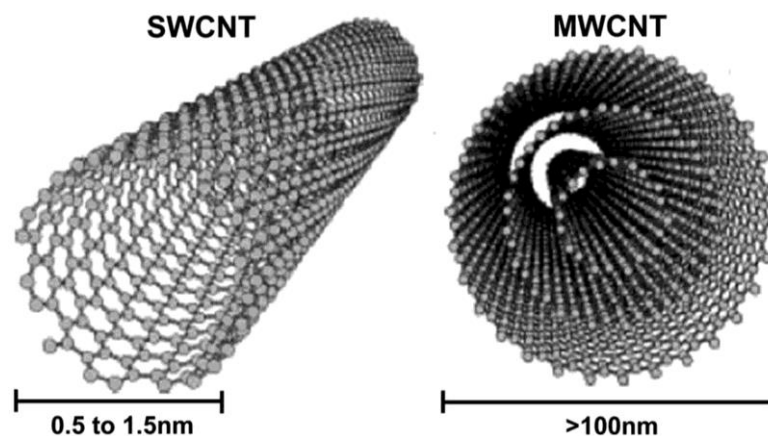
Cílem této diplomové práce je modifikace dvou typů elektrod za použití nanočástic, konkrétně uhlíkových nanotrubiček, a několika druhů pojiva, např. chitosanu či nafionu, a jejich následná charakterizace pomocí voltametrických metod. Dalším záměrem této práce je ověřit využití takto modifikovaných elektrod pro stanovení butylhydroxyanisolu.

1.2. Uhlíkové nanotrubičky

Uhlíkové nanotrubičky (carbon nanotubes, CNT) jsou alotropní modifikací uhlíku obsahující jednu nebo více soustředných grafitových trubiček ^[1]. Byly objeveny v roce 1991 Sumio Iijimou ^[2] a od té doby se staly často používaným materiálem v nejrůznějších oblastech – především díky svým strukturním, elektronickým, mechanickým, fyzikálním a chemickým vlastnostem ^[3]. Výhodnými vlastnostmi jsou např. jejich malé rozměry, velký specifický povrch, elektrická vodivost, velká kapacitance, rychlost přenosu elektronů, elektrokatalytický efekt, adsorpční schopnosti, hydrofobicitu, odolnost vůči mnoha rozpouštědlům, chemická stabilita, mechanická odolnost a biokompatibilita ^[4, 5, 6, 7]. V závislosti na svém geometrickém uspořádání mohou CNT sloužit jako vodiče, polovodiče či supravodiče ^[1]. Zejména pro analytickou chemii jsou vlastnosti CNT velmi výhodné a vedou k jejich využívání v oblasti chromatografie, senzorů, biosenzorů, nanosond atp. ^[8].

Ze studií vyplývá, že koncové prstence CNT jsou mnohem reaktivnější než jejich samotný povrch a jsou otevřeny oxidaci ^[3, 9, 10]. Oxidace způsobuje ve struktuře prstenců defekty – pětiúhelníkové struktury namísto šestiúhelníkových a vytváření karboxylových či hydroxylových skupin, které jsou zodpovědné za zvýšený přenos elektronů. Díky těmto defektům ve struktuře CNT je možná i jejich modifikace ^[1].

Existují dva typy CNT (Obr. 1.1) – single-walled neboli jednostěnné (SWCNT) a multi-walled neboli mnohostěnné CNT (MWCNT). Zatímco SWCNT jsou tvořeny jednou vrstvou sp^2 hybridizovaného uhlíku v šestiúhelníkové struktuře stočené do válce s průměrem přibližně 1 nm, MWCNT se skládají z několika soustředných vrstev grafenu a mají průměr od 2 do 100 nm ^[1, 4, 11]. Grafen je nejtenčí známý vysoce mechanicky odolný uhlíkový materiál s velkým specifickým povrchem, vysokou termální a elektrickou vodivostí ^[12, 13].



Obr. 1.1 Struktura SWCNT a MWCNT^[14].

Nejrozšířenějšími způsoby výroby CNT jsou metoda obloukového výboje, laserová ablace a depozice z plynné fáze (chemical vapor deposition, CVD). První dva zmiňované postupy využívají pevnolátkové prekurzory, zatímco u CVD jsou zdrojem uhlíku plynné uhlovodíky. Většina komerčně dostupných CNT je vyrobena metodou CVD. Vlastnosti CNT lze dále měnit funkcionalizací jejich povrchu, a tím je přizpůsobit pro požadované účely. Stěny nanotrubiček nejsou reaktivní, a proto k funkcionalizaci dochází zejména na koncových prstencích CNT. Díky této předúpravě je možné pomocí chemické reakce na CNT navázat potřebné funkční skupiny, např. amidové či thiolové^[3, 4, 8].

Některé z výjimečných vlastností CNT, zejména zvýšené elektrochemické vlastnosti, velký specifický povrch a kompatibilita s nejrůznějšími materiály jsou žádoucí pro výrobu vysoce citlivých elektrochemických senzorů^[1]. Díky tomu použití CNT v kombinaci s elektrodoými materiály v dnešní době čím dál více přitahuje zájem odborné veřejnosti.

1.2.1. Způsoby modifikace elektrod ze skelného uhlíku a uhlíkových pastových elektrod pomocí CNT

V současné době se stále častěji používají elektrody upravené nejrůznějšími látkami, tzv. modifikátory. Modifikace elektrod je žádoucí vzhledem k velmi širokému spektru analytů, které jsou sledovány. Takto upravené elektrody zpravidla poskytují lepší odezvu, kvalitnější signál a umožňují specifické stanovení konkrétní látky. CNT jsou jedním z mnoha modifikátorů, které je možno použít. V jejich případě dochází k tvorbě suspenze s konkrétním pojivem, k modifikaci elektrod se poté používá právě tato suspenze.

Modifikace elektrod z pevných materiálů, tedy i elektrod ze skelného uhlíku (GCE), může být uskutečněna přímým nanesením suspenze CNT a pojiva na aktivní povrch elektrody

[6, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21], ponořením elektrody do suspenze modifikátoru [22, 23, 24] nebo může být pro nanesení filmu použita elektrodepozice [25, 26]. Elektrodu je třeba po aplikaci filmu nechat vysušit. Způsoby sušení se liší v závislosti na více faktorech, např. na typu použitého polymeru či požadované rychlosti vysušení filmu na povrchu elektrody. Sušení může probíhat za laboratorních podmínek [16, 27, 28, 29, 30, 31], při konkrétní termostátované teplotě [25, 32, 33, 34], za použití infračerveného (IR) záření [17, 35] nebo v proudu dusíku [24, 36].

Uhlíkové pastové elektrody mohou být modifikovány dvěma způsoby. Nejčastěji je používána modifikace, kdy je modifikátor přímo zahrnut ve složení uhlíkové pasty. Taková pasta tedy obsahuje prášek uhlíku (např. skelného, pyrolytického,...), silikonový, či parafinový olej a modifikátor. V případě modifikace pomocí uhlíkových nanotrubiček je možné jimi uhlíkový prášek částečně či zcela nahradit. Takto připravená směs je řádně promíchána ve třecí misce a naplněna do těla elektrody. Pro vytvoření hladkého povrchu je z elektrody následně část pasty vytlačena a otřena na filtračním papíře [11, 37, 38, 39, 40, 41]. Méně používaným způsobem je modifikace pomocí filmů. Film může být stejně jako u elektrod z pevných materiálů přímo nanesen na elektrodu nebo je po ponoření do připraveného roztoku modifikátoru nanesen elektrochemicky [42, 43, 44].

1.2.2. Postupy při modifikaci kompozitních elektrody pomocí CNT

Pro přípravu suspenze k modifikaci elektrod uhlíkovými nanotrubičkami je nezbytné je nejdříve vyčistit a funkcionalizovat. Pro funkcionalizaci CNT se používají nejrůznější kyseliny či jejich směsi, např. kyselina dusičná, kombinace kyseliny sírové a dusičné 3:1 (v/v) či „piranha“ (směs 30% H_2O_2 s koncentrovanou H_2SO_4 , 3:1 (v/v)) [32, 33]. Nanotrubičky ponořené do kyselého roztoku jsou po určitou dobu mechanicky míchány či ultrasonikovány. Doba míchání (sonikace) se liší podle typu použitého roztoku. Takto vyčištěné nanotrubičky jsou následně filtrovány a promývány destilovanou vodou do neutrálního pH. Filtrát je sušen při vysokých teplotách, doba sušení se v literatuře také liší [20, 22].

Při přípravě kompozitních elektrod jsou CNT často kombinovány s dalšími látkami, např. polymery, povrchově aktivními látkami, ligandy nebo kovy. Velmi často se pro vytvoření kompozitu společně s CNT používají různé druhy polymerů; kromě dalších výhodných vlastností podporují disperzi clusterů, které mají CNT tendenci v roztoku vytvářet [45]. Jeden z nejužívanějších je nafion (Naf), jehož iontově-výměnné vlastnosti a vysoká stabilita jsou výhodné zejména pro detekci některých těžkých kovů, např. olova, kadmia nebo india [1]. Dalšími polymery často zmiňovanými v kombinaci s CNT jsou chitosan (Chit) [15, 16],

polyanilin^[46, 47], poly(diallyldimethylammonium)chlorid, poly(ethylenimin) či polyhistidin^[24, 35, 45].

Před samotnou modifikací je vhodné začlenit čištění povrchu podkladové elektrody, které v některých případech může zlepšit kvalitu signálu. Pro mechanické čištění elektrod ze skelného uhlíku se nejčastěji využívá leštění do zrcadlového lesku na destičce s aluminou (Al_2O_3) o různém průměru částic. Takto vyleštěná GCE je opláchnuta destilovanou či deionizovanou vodou, po určitou dobu ultrasonikována v organickém rozpouštědle (ethanol, aceton) a destilované (deionizované) vodě a následně sušena za laboratorních podmínek^[6, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 29, 30, 48]. Samotnému leštění za použití aluminy může předcházet například mechanické čištění pomocí smirkového papíru^[19], či elektrochemické čištění aplikací několika cyklů v určitém rozmezí potenciálů^[49]. Další možností je pouhé opláchnutí povrchu GCE destilovanou vodou a její následné otření na filtračním papíře, které však nemusí v každém případě vést ke kvalitním výsledkům. Čištění uhlíkových pastových elektrod (CPE) není nutné, jelikož obnova aktivního povrchu elektrody je v tomto případě velmi snadná. Znečištěná část pasty je pístem mechanicky vytlačena a otřením na filtračním papíře vzniká nový povrch.

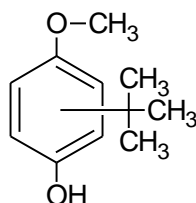
Po nanesení suspenze polymeru s CNT na elektrodu dochází k pokrytí celého jejího povrchu, avšak tato vrstva není homogenní a hustota CNT může být v dané vrstvě suspenze na různých místech odlišná. Toto rozložení závisí na mnoha faktorech, např. na druhu rozpouštědla použitého pro přípravu suspenze, povaze použitého polymeru a jeho koncentraci a poměru množství CNT/polymer^[50, 51, 52]. Koncentrace polymeru je při přípravě suspenze velmi důležitým faktorem – musí být dostatečně vysoká pro účinnou disperzi CNT, ale jen tak, aby nedošlo k blokaci přenosu elektronů^[53]. Stejně tak příliš vysoká koncentrace CNT v suspenzi může negativně ovlivňovat analytický signál – pokud je množství uhlíkových nanotrubiček v suspenzi optimální, dochází ke zvýšení analytického signálu, avšak při jejich příliš vysoké koncentraci může dojít ke zvýšení kapacitního proudu, a tedy i ke zhoršení mezí detekce^[54]. Přítomnost ethanolu jako spolu-rozpouštědla v suspenzi značně zlepšuje kvalitu dispergace CNT, zatímco při použití vody jako rozpouštědla dochází naopak k jejich agregaci. Významný vliv na řádnou dispergaci CNT má i doba ultrasonikace, jejíž optimální hodnota je ovšem rovněž závislá na druhu použitého polymeru^[45, 55].

Polymer vhodný pro použití k modifikaci povrchu elektrody v kombinaci s CNT by měl obsahovat hydrofobní, ale i hydrofilní oblasti. Přítomnost hydrofobních oblastí je nutná

pro lepší interakci polymeru s nanočásticemi, hydrofilní skupiny jsou nepostradatelné z důvodu účinné disperze ve vodném roztoku [45].

1.3. Butylhydroxyanisol

Sledovaným analytem byl butylhydroxyanisol (BHA, Obr. 1), který je přidáván jako antioxidant do jedlých tuků a olejů či potravin, které tuky obsahují, jako jsou např. máslo, cereálie, maso, bramborové produkty, pečivo, žvýkačky či nejrůznější nápoje. Přítomnost BHA v potravinách / tucích zabraňuje jejich kažení. V závislosti na použití může být BHA kombinován s dalšími antioxidanty jako je butylhydroxytoluen, *tert*-butylhydrochinon či kyselina citronová. Mimo potravinářský průmysl je tato látka také rozšířeně využívána v kosmetice (především při výrobě rtěnek a očních stínů), kde rovněž plní funkci konzervantu a antioxidantu [56, 57].



Obr. 1.2 Chemická struktura butylhydroxyanisolu.

Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (U. S. Food and Drug Administration, FDA) klasifikoval BHA jako látku všeobecně považovanou za bezpečnou (Generally Recognized As Safe, GRAS), pokud ovšem obsah všech antioxidantů nepřesáhne 0,02 % (w/w) z celkového tuku / oleje v dané potravine. Nejvyšší povolená koncentrace BHA v dalších potravinářských produktech, jako jsou drůbeží maso a masové produkty, cereálie nebo suché směsi pro přípravu nápojů, je 0,001 – 0,02 % [56]. Podle směrnic Evropské unie nesmí konečný potravinářský produkt obsahovat více než 0,4 mg kg⁻¹ BHA [58].

Pro stanovení BHA se užívají zejména plynová chromatografie [59, 60, 61], vysokoúčinná kapalinová chromatografie [62, 63, 64], tenkovrstevná chromatografie [65, 66], nukleární magnetická rezonance [67, 68], voltametrické techniky [69, 70, 71] nebo spektrofotometrie [72, 73]. V minulosti se také hojně využívalo kolorimetrických metod [74, 75, 76].

Vzhledem k vysoké expozici BHA člověka bylo v literatuře popsáno hned několik testů karcinogenity. Po perorálním podání látky skupinám několika druhů experimentálních zvířat byly karcinogenní účinky prokázány. Dále pak bylo dokázáno, že BHA v kombinaci

s ostatními látkami ovlivňuje jejich účinky na organismus ať už karcinogenní, mutagenní či účinky na DNA. Ve většině studií však bylo prokázáno snížení aktivity nepřímo působících mutagenů či karcinogenů vlivem této látky. Bohužel však nejsou dostupná žádná data, která by prokázala nebo vyvrátila karcinogenní účinky BHA na člověka ^[56, 77].

2. Experimentální část

2.1. Studovaná látka, ostatní chemikálie

Zásobní roztok butylhydroxyanisolu ($\geq 98,5$ %; Sigma Aldrich) o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním přesně naváženého množství dané látky ve směsi destilované vody a ethanolu (96%, Lach-Ner, Neratovice, Česká republika). Obsah ethanolu v zásobním roztoku BHA činil 2 %.

Britton-Robinsonův pufr (BR pufr) představovala směs kyseliny octové (99%, p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika), kyseliny *o*-fosforečné (85%, p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika) a kyseliny borité (p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika), každé o koncentraci $0,04 \text{ mol l}^{-1}$. Pro úpravu pH pufru byl použit $0,2 \text{ mol dm}^{-3}$ vodný roztok hydroxidu sodného (p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika). Přesná hodnota pH byla měřena pH metrem.

Pro charakterizaci elektrod byl použit směsný vodný roztok $10^{-2} \text{ mol l}^{-1}$ ferrokyanidu draselného s 1 mol l^{-1} chloridem sodným (oba p.a., Lach-Ner, Neratovice, Česká republika). Tento roztok byl připraven navážením přesného množství obou látek a jejich rozpuštěním v destilované vodě.

Pasta pro použité uhlíkové pastové elektrody byla připravena smísením 250 mg mikrokrytalického grafitu o průměru 3,5 – 5,5 μm (Graphite Týn, Týn nad Vltavou, Česká republika) a 100 μl minerálního oleje (Sigma-Aldrich) ve třecí misce. Pasta byla následně plněna do teflonového těla každé z elektrod o vnitřním průměru 2 mm.

Uhlíkové pastové elektrody i elektroda ze skelného uhlíku byly modifikovány filmy obsahujícími uhlíkové nanotrubičky a několik druhů pojiva. Pro přípravu filmů byly použity mnohostěnné uhlíkové nanotrubičky (≥ 98 % carbon basis, $10 \pm 1 \text{ nm} \times 4,5 \pm 0,5 \text{ nm} \times 3 - 6 \text{ nm}$, Sigma-Aldrich), nafion (5% solution in lower aliphatic alcohols / H_2O , Sigma Aldrich), chitosan (low molecular weight, Sigma Aldrich) a acetonitril (gradient grade for liquid chromatography, Merck, Německo). Pro předúpravu MWCNT byla použita kyselina dusičná (65%, Lach-Ner, Neratovice, Česká republika).

2.2. Přístrojové vybavení

Voltametrická měření byla provedena pomocí potenciostatu PalmSens2 (PalmSens BV, Nizozemí) se softwarem PSTrace 4.0 v tříelektrodovém zapojení s argentchloridovou referentní (3 mol l^{-1} KCl, ETP CZ R-008-05, Monokrystaly Turnov, Česká republika) a platinovou pomocnou elektrodou (ETP CZ P-002-05, Monokrystaly Turnov, Česká republika). Byly použity dva druhy pracovních elektrod – uhlíková pastová elektroda v teflonovém těle s ocelovým pístem (vnitřní průměr těla 2 mm) ^[78] a elektroda ze skelného uhlíku ve skleněném těle (průměr aktivní plochy 2 mm, Metrohm, Švýcarsko). Pro promíchání roztoku v elektrochemické cele byla používána magnetická míchačka Magnetic Stirrer MS 3000 (Jenway, Velké Británie).

Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH-metrem Conductivity and pH-meter 3510 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou.

Pro ultrasonikaci byla používána ultrazvuková lázeň Notus Powersonic PS 02000A (NOTUS-POWERSONIC, Slovensko).

2.3. Pracovní postupy

2.3.1. Funkcionalizace a čištění MWCNT

Uhlíkové nanotrubičky je pro další použití nutné nejprve funkcionalizovat, aby získaly požadované vlastnosti. Čištění a funkcionalizace byla provedena pomocí koncentrované kyseliny dusičné. Kyselina dusičná působí na MWCNT destruktivně a zavádí karboxylové skupiny na jejich koncové prstence či defekty ve stěnách.

Nejprve bylo 120 mg nevyčištěných MWCNT po dobu 20 hodin mícháno v roztoku 3 mol l^{-1} kyseliny dusičné, následně byla suspenze přefiltrována přes filtrační papír a pevný produkt byl promýván destilovanou vodou do neutrálního pH. Takto funkcionalizované MWCNT byly nakonec sušeny v sušárně 24 hodin při 80°C ^[22].

2.3.2. Příprava filmů pro modifikaci elektrod

Pro přípravu filmů pro úpravu povrchu daných elektrod byla v kombinaci s uhlíkovými nanotrubičkami vybráno jedno organické rozpouštědlo – acetonitril (AcN) a polymery nafion a chitosan.

Při přípravě suspenze MWCNT/AcN bylo čerpáno z literatury a zmiňované postupy byly následně upraveny podle potřeby daného rozpouštědla – acetonitrilu. Suspenze o koncentraci MWCNT $0,5 \text{ mg ml}^{-1}$ byla připravena navážením přesného množství nanotrubiček, smísením s daným objemem acetonitrilu a následnou ultrasonikací po dobu 30 min. Na elektrodu bylo automatickou pipetou nanášeno $5 \text{ }\mu\text{l}$ suspenze, kterou bylo nutné těsně před nanesením 15 min ultrasonikovat, aby byly CNT v AcN dostatečně dispergované. MWCNT/AcN film byl sušen na vzduchu za laboratorní teploty ^[79, 80].

Pro přípravu suspenze MWCNT/Naf byl nejprve zásobní 5% roztok nafionu naředěn ethanolem. Poté bylo 10 ml 0,025% nafionu smíšeno s 20 mg MWCNT a směs byla ultrasonikována 10 min. Před každým nanesením $5 \text{ }\mu\text{l}$ suspenze bylo nutné nanotrubičky v roztoku dispergovat pomocí ultrazvuku (10 min), obdobně jako v případě MWCNT/AcN filmu. Způsob nanášení suspenze i sušení filmu se v případě MWCNT/Naf a MWCNT/AcN shodoval ^[29].

Posledním z použitých způsobů modifikace elektrod je modifikace filmem MWCNT/Chit. Přesné množství chitosanu k vytvoření roztoku o koncentraci $5 \cdot 10^{-3} \text{ mg ml}^{-1}$ bylo rozpuštěno v 2 mol dm^{-3} kyselině octové. Do 1 ml takto připraveného roztoku Chit byly následně přidány 3 mg MWCNT, směs byla ultrasonikována po dobu 3 hodin, $5 \text{ }\mu\text{l}$ suspenze nanášeno automatickou pipetou na povrch elektrody a film byl sušen horkým vzduchem po dobu 3 min ($70 \text{ }^\circ\text{C}$). Stejně jako v předchozích případech bylo nutné před každým nanesením suspenzi ultrasonikovat (15 min) ^[22].

2.3.3. Specifikace použitých metod

Pro všechna měření byly v této práci použity dvě voltametrické techniky, cyklická voltametrie (CV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV). Specifické parametry použitých metod jsou uvedeny v následující tabulce (Tab. 2.1). Před každým měřením při použití jak cyklické, tak diferenční pulzní voltametrie, byl roztok v elektrochemické cele důkladně promíchán pomocí magnetické míchačky.

Tab. 2.1 Specifikace použitých voltametrických technik.

Parametr	CV	DPV
Rychlost skenu, mV s^{-1}	100	20
Potenciálový krok, mV	-	5
Výška pulzu, mV	-	50
Šířka pulzu, s	-	0,1
Doba míchání, s	5	5

3. Výsledky a diskuze

3.1. Modifikace MWCNT/AcN filmem

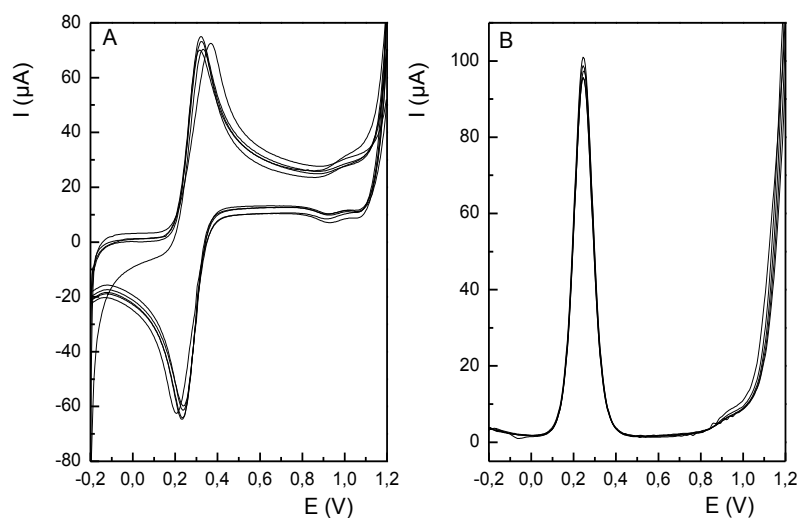
Film MWCNT/AcN byl aplikován pouze na elektrodu ze skelného uhlíku, jelikož při nanesení na uhlíkovou pastovou elektrodu by způsobil destrukci uhlíkové pasty v důsledku působení acetonitrilu.

3.1.1. Opakovatelnost stanovení

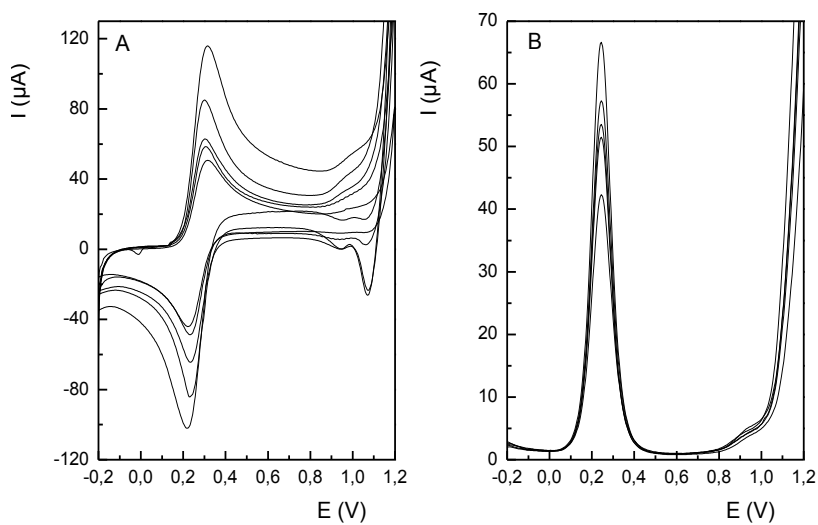
Pro ověření funkčnosti GCE modifikované MWCNT/AcN filmem (GCE/MWCNT/AcN) byly nejprve opakovaně proměřeny voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl. Měření byla prováděna dvěma způsoby – opakovaně na jednom MWCNT/AcN filmu a po nanesení nového filmu. Průběh opakovaného stanovení tohoto redoxního systému na jednom filmu a po jeho obnově je pro ilustraci vyobrazen na Obr. 3.1 a Obr. 3.2. Jak je vidět z Obr. 3.3, měření na elektrodě s neobnověným MWCNT/AcN filmem vykazuje lepší opakovatelnost než při jeho obnovování. Zatímco výška analytického signálu se u jednotlivých voltamogramů při stanovení na jednom filmu příliš nelišila a relativní směrodatná odchylka pro obě voltametrické techniky nepřesáhla 5 %, při obnově filmu mezi každým měřením byly výsledky značně horší (Tab. 3.1). Patrně v důsledku tvorby clusterů CNT v suspenzi s AcN a jejich nerovnoměrného rozložení na povrchu aktivní části elektrody je hustota CNT v každém naneseném filmu odlišná, a tím se liší i odezva elektrody.

Tab. 3.1 Relativní směrodatné odchylky voltametrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření na jednom filmu a po obnově filmu.

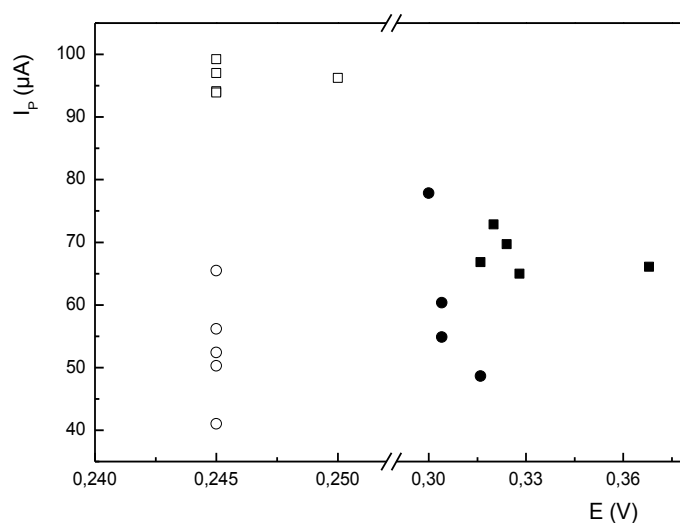
Způsob měření	RSD, %	
	CV	DPV
Jeden film	4,8	2,3
Obnova filmu	41,7	17,0



Obr. 3.1 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření na jednom filmu.



Obr. 3.2 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření po obnově filmu.



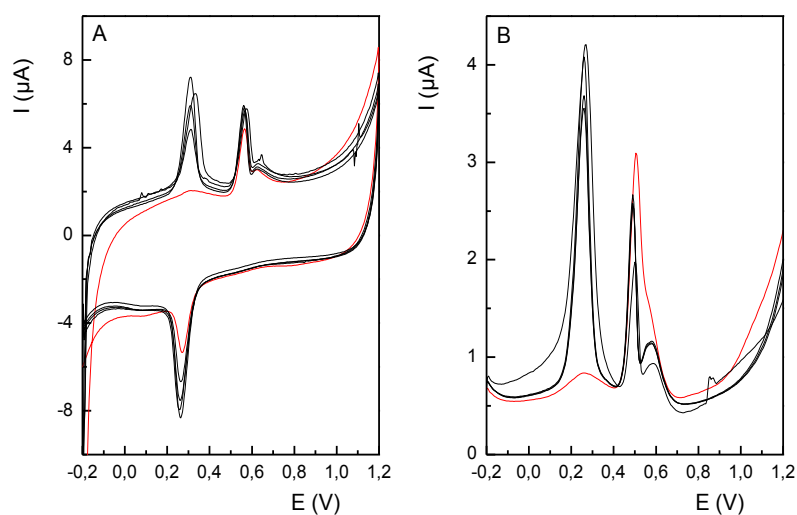
Obr. 3.3 Opakovatelnost voltametrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na jednom MWCNT/AcN filmu a při jeho obnově: ■ CV, 1 film; □ DPV, 1 film; ● CV, obnova filmu; ○ DPV, obnova filmu.

Po aplikaci CV a DPV technik využívající GCE/MWCNT/AcN na redoxní systém $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ byly tyto metody použity rovněž pro opakovaná stanovení butylhydroxyanisolu o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Pro určení opakovatelnosti byla měření prováděna stejnými dvěma způsoby popsány výše. Z průběhu stanovení BHA na GCE/MWCNT/AcN s použitím jednoho filmu (Obr. 3.4) je patrné, že ve srovnání se stanovením redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ jsou rozdíly mezi výškou jednotlivých píků větší, tomu odpovídá i vyšší relativní směrodatná odchylka. V tomto grafu je rovněž červenou linií vyobrazeno první z pěti opakovaných měření. Pík č. 2, který odpovídá cílovému analytu, je při prvním měření vyšší a s dalšími experimenty dochází k jeho snížení, zatímco pík č. 1 narůstá. Tento pokles (nárůst) však u opakovaných pokusů nevykazuje žádnou závislost. Na Obr. 3.5 je zachycen průběh opakovaných stanovení BHA na GCE/MWCNT/AcN s obnovou filmu před každým měřením. Rozdíly ve velikosti signálu analytu při daných opakovaných měřeních jsou znázorněny na Obr. 3.6. Relativní směrodatné odchylky pro signály BHA odpovídající stanovení na jednom filmu i pro opakovaná měření po jeho obnově jsou uvedeny v Tab. 3.2.

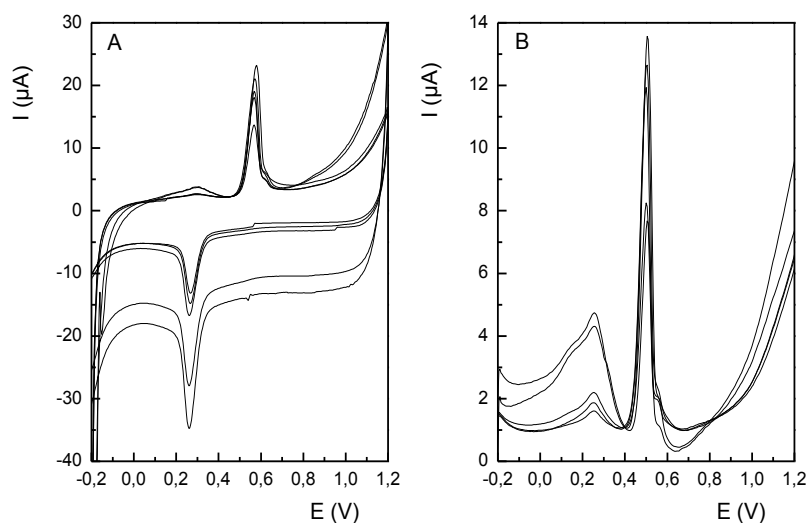
Po určitém počtu měření danými voltametrickými technikami na jediném filmu modifikované elektrody docházelo k jeho postupnému odlupování. Proto byla pro další měření zvolena metoda pravidelného obnovování MWCNT/AcN filmu před každým stanovením.

Tab. 3.2 Relativní směrodatné odchylky voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření na jednom filmu a po obnově filmu.

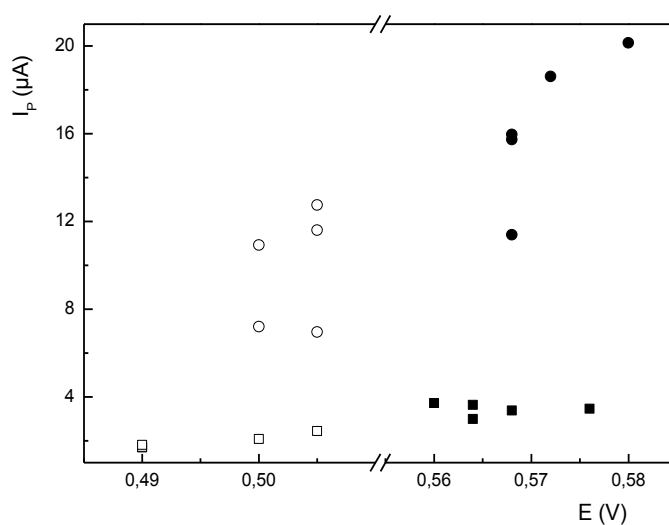
Způsob měření	RSD, %	
	CV	DPV
Jeden film	8,2	17,5
Obnova filmu	20,9	24,2



Obr. 3.4 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření na jednom filmu; — 1. měření.



Obr. 3.5 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/AcN, opakovaná měření po obnově filmu.



Obr. 3.6 Opakovatelnost voltametričkého stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na jednom MWCNT/AcN filmu a při jeho obnově: ■ CV, 1 film; □ DPV, 1 film; ● CV, obnova filmu; ○ DPV, obnova filmu.

3.1.2. Závislost na pH

Pomocí obou výše zmiňovaných voltametričských technik byl testován vliv pH Britton-Robinsonova pufru na velikost analytického signálu a potenciál stanovené látky

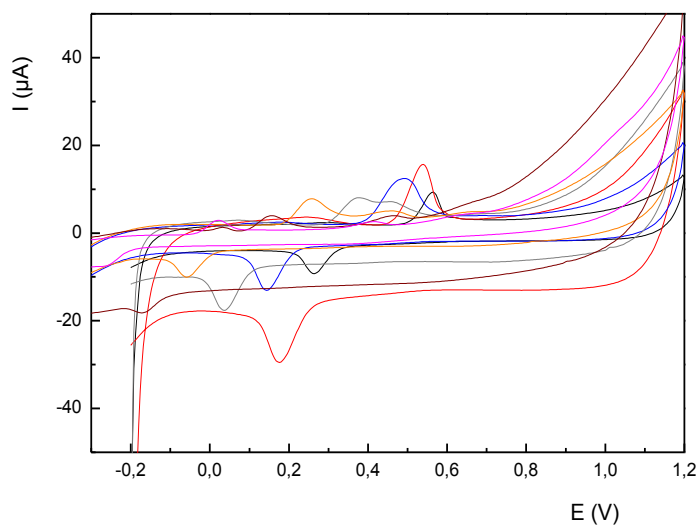
o koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Hodnoty pH BR pufru se při těchto měřeních pohybovaly v rozmezí 2,0 – 12,0 se změnou po dvou jednotkách. Vliv pH na proudovou odezvu a potenciál butylhydroxyanisolu je znázorněn na Obr. 3.7 pro metodu CV a na Obr. 3.8 pro DPV. Z grafu závislosti proudu analytu na vloženém potenciálu měřeném technikou CV (Obr. 3.7) je jasně vidět, že nejvyšší a současně dobře definovaný signál poskytuje BHA v BR pufru o pH 3,0. Při použití diferenční pulzní voltametrie nejsou rozdíly ve výšce ani tvaru píku v oblasti kyselých pH tak výrazné (Obr. 3.8).

S rostoucím pH docházelo k posunu potenciálu píku BHA směrem k zápornějším hodnotám. Při použití metody cyklické voltametrie docházelo s rostoucím pH také k deformaci tvaru analytického signálu a současně v rozmezí hodnot pH 8,0 – 12,0 bylo možné pozorovat více vedlejších signálů, které nebyly detailněji studovány. Technikou DPV bylo možné tyto vedlejší píky sledovat v průběhu měření celého rozsahu hodnot pH.

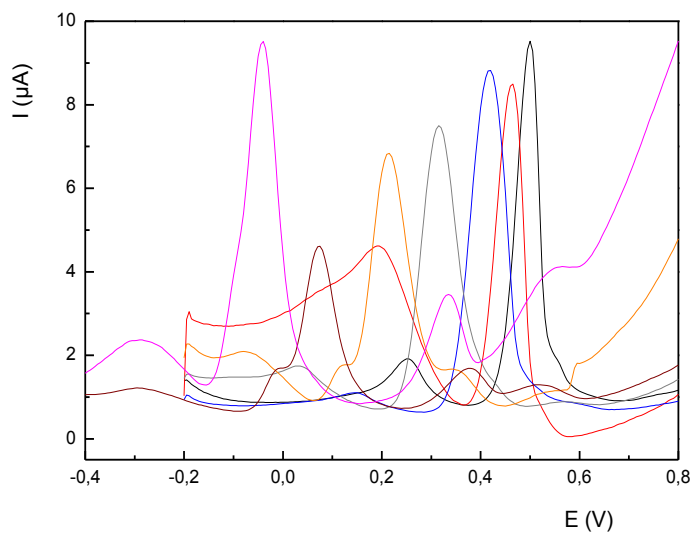
Vzhledem k průběhu cyklických voltamogramů analyzované látky kde byla závislost velikosti i tvaru signálu na pH roztoku pufru velmi výrazná bylo jako optimální pro další měření zvoleno pH 3,0. Při tomto pH poskytovalo BHA dobře definované maximum za použití obou voltametrických metod.

Pro srovnání chování modifikované a nemodifikované elektrody byla pH závislost BHA proměřena i na GCE bez MWCNT/AcN filmu (Obr. 3.9, Obr. 3.10). Výsledky získané při použití nemodifikované elektrody potvrzují informace dostupné v literatuře, tedy že modifikace povrchu elektrody uhlíkovými nanotrubičkami výrazně zvyšuje její proudovou odezvu (Obr. 3.11). Srovnání výšek píků butylhydroxyanisolu stanovovaného na modifikované a nemodifikované GCE je zdokumentováno na Obr. 3.12 A, B. Z těchto dvou grafů je vidět, že při použití nemodifikované elektrody se výška píku analytu v závislosti na pH výrazně nemění na rozdíl od stanovení na GCE/MWCNT/AcN, kdy je tato závislost s rostoucí hodnotou pH do určité míry klesající.

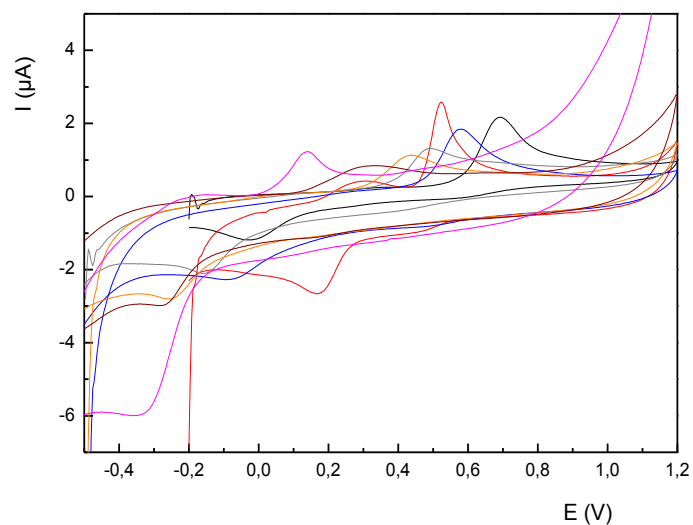
Jak je patrné z přiložených voltamogramů, dochází při stanovení BHA na nemodifikované GCE, stejně jako v případě modifikované elektrody, s rostoucím pH k posunu potenciálu analytu k negativnějším hodnotám. Optimální hodnota pH BR pufru je rovněž jako v případě GCE/MWCNT/AcN pH 3,0 (Obr. 3.9, Obr. 3.10).



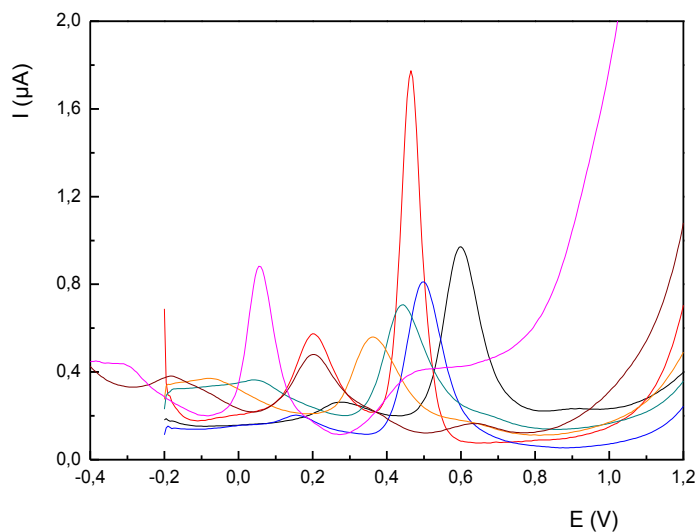
Obr. 3.7 Cyklické voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) pro GCE/MWCNT/AcN v prostředí BR pufru v rozmezí pH 2,0 až 12,0: — pH 2,0; — pH 3,0; — pH 4,0; — pH 6,0; — pH 8,0; — pH 10,0; — pH 12,0.



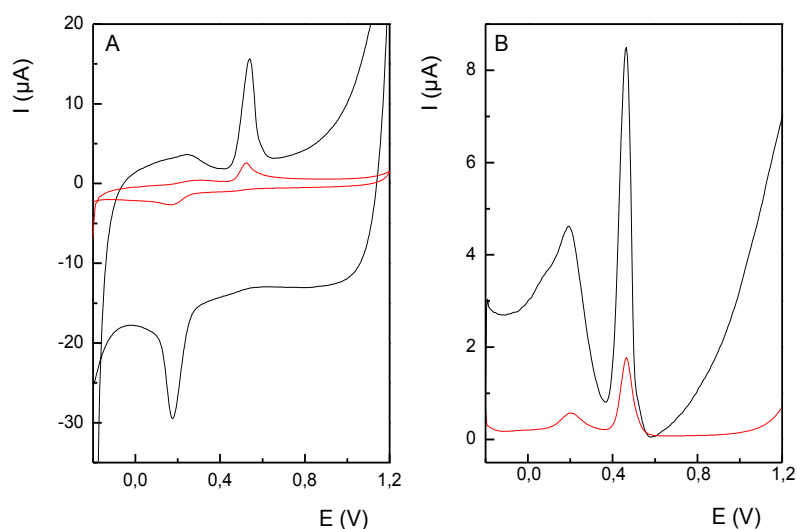
Obr. 3.8 Diferenční pulzní voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) pro GCE/MWCNT/AcN v prostředí BR pufru v rozmezí pH 2,0 až 12,0: — pH 2,0; — pH 3,0; — pH 4,0; — pH 6,0; — pH 8,0; — pH 10,0; — pH 12,0.



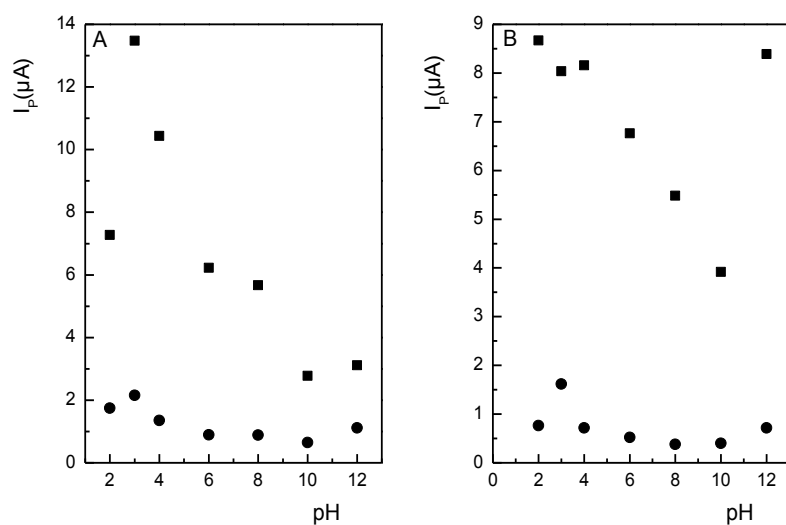
Obr. 3.9 Cyklické voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) pro nemodifikovanou GCE v prostředí BR pufru v rozmezí pH 2,0 až 12,0: — pH 2,0; — pH 3,0; — pH 4,0; — pH 6,0; — pH 8,0; — pH 10,0; — pH 12,0.



Obr. 3.10 Diferenční pulzní voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) pro nemodifikovanou GCE v prostředí BR pufru v rozmezí pH 2,0 až 12,0: — pH 2,0; — pH 3,0; — pH 4,0; — pH 6,0; — pH 8,0; — pH 10,0; — pH 12,0.



Obr. 3.11 Porovnání odezvy detektoru při stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 3 metodami CV (A) a DPV (B) za použití GCE/MWCNT/AcN (—) a nemodifikované GCE (—).



Obr. 3.12 Závislost výšky píku I_p BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) na pH BR pufru měřená metodami CV (A) a DPV (B) za použití GCE/MWCNT/AcN (■) a nemodifikované GCE (●).

3.1.3. Kalibrační závislost

Po určení optimální hodnoty pH BR pufru ($\text{pH} = 3,0$) byly v tomto prostředí proměřeny cyklické a diferenční pulzní voltamogramy butylhydroxyanisolu v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ (Obr. 3.13, Obr. 3.14). Jak je patrné z uvedených

voltamogramů, nedochází k posunu polohy píku v důsledku měnící se koncentrace a potenciálový rozsah zůstává zachován.

Pro určení parametrů kalibrační závislosti byly vyneseny hodnoty výšky analytického signálu BHA v závislosti na odpovídajících hodnotách koncentrace (Obr. 3.15, Obr. 3.16), parametry byly zjištěny metodou lineární regrese. Z obou těchto kalibračních grafů, stejně tak i z Tab. 3.3 je zřejmé, že průběh koncentračních závislostí měřených jak cyklickou, tak diferenční pulzní voltametří není v celém daném rozsahu lineární. Mez detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ) byly vypočteny podle následujících rovnic:

$$LOD = \frac{3 \times s_{x,y} - b}{K} \quad (1)$$

$$LOQ = \frac{10 \times s_{x,y} - b}{K} \quad (2)$$

, kde $s_{x,y}$ je chyba střední hodnoty, b úsek a K směrnice kalibrační přímky.

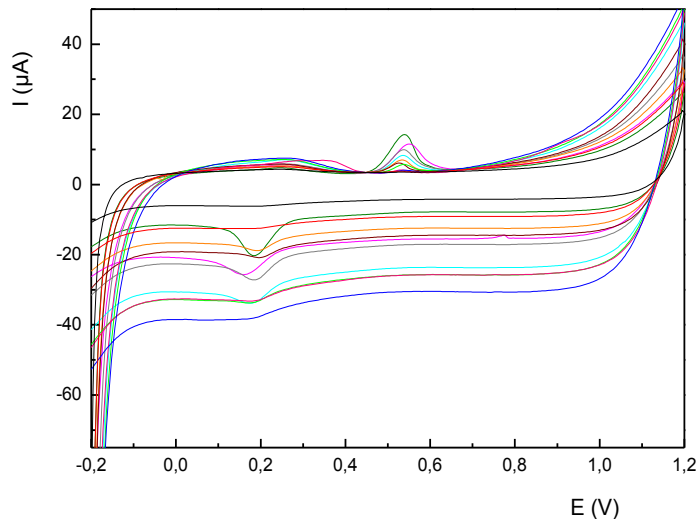
Odchytky od linearity jsou způsobeny ne příliš konzistentními výsledky opakovaných stanovení jednotlivých kalibračních standardů, relativní směrodatné odchytky výšky analytického signálu BHA jsou uvedeny v Tab. 3.4.

Tab. 3.3 Parametry kalibrační závislosti, mez detekce a stanovitelnosti BHA v prostředí BR pufru o pH 3,0 pro CV a DPV.

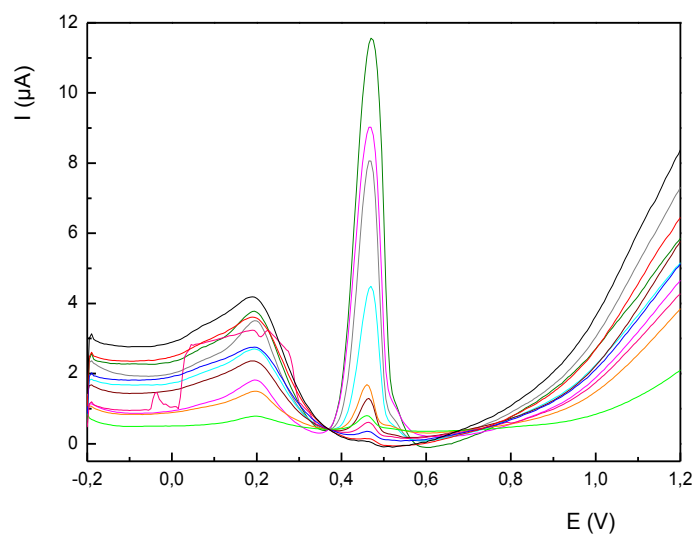
Parametr	CV	DPV
Směrnice, mA l mol ⁻¹	98,4	104,5
Úsek, μA	0,56	-0,34
Korelační koeficient	0,9816	0,9568
Koeficient linearity	1,0243	0,9894
LOD, mol l ⁻¹	1,6 · 10 ⁻⁵	3,7 · 10 ⁻⁵
LOQ, mol l ⁻¹	6,6 · 10 ⁻⁵	1,2 · 10 ⁻⁴

Tab. 3.4 Relativní směrodatné odchyly voltametrického stanovení BHA v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ v prostředí BR pufru o pH 3,0 na GCE/MWCNT/AcN.

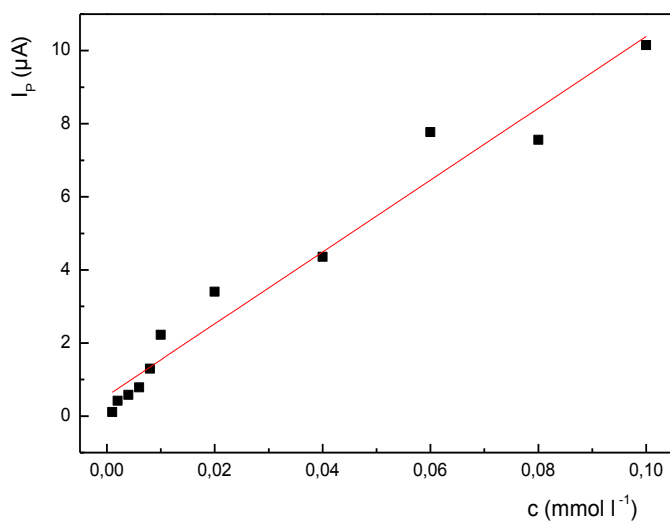
Koncentrace, mol l^{-1}	RSD, %	
	CV	DPV
$1 \cdot 10^{-4}$	28,8	38,4
$8 \cdot 10^{-5}$	48,1	44,4
$6 \cdot 10^{-5}$	10,6	27,2
$4 \cdot 10^{-5}$	23,9	14,9
$2 \cdot 10^{-5}$	51,0	29,0
$1 \cdot 10^{-5}$	36,6	6,1
$8 \cdot 10^{-6}$	44,8	36,2
$6 \cdot 10^{-6}$	24,3	22,3
$4 \cdot 10^{-6}$	31,7	46,7
$2 \cdot 10^{-6}$	23,8	78,4
$1 \cdot 10^{-6}$	16,4	53,4



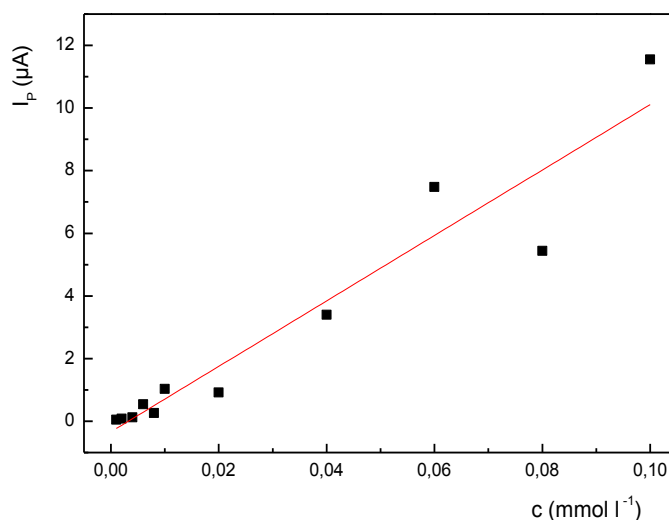
Obr. 3.13 Cyklické voltamogramy BHA v prostředí BR pufru o pH 3,0 měřené na GCE/MWCNT/AcN v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$: — $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$; — $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; — $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; — $4 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; — $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; — $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; — $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; — $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; — $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; — $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; — $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ BHA.



Obr. 3.14 Diferenční pulzní voltamogramy BHA v prostředí BR pufru o pH 3,0 měřené na GCE/MWCNT/AcN v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$: $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$; $8 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; $6 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; $4 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; $2 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol l}^{-1}$; $8 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; $6 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; $4 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$; $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol l}^{-1}$ BHA.



Obr. 3.15 Kalibrační závislost BHA v prostředí BR pufru o pH 3,0 v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$. Měřené technikou CV na GCE/MWCNT/AcN.



Obr. 3.16 Kalibrační závislost butylhydroxyanisolu v prostředí BR pufru o pH 3,0 v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$ pro techniku DPV na GCE/MWCNT/AcN.

3.2. Modifikace MWCNT/Naf filmem

K modifikaci pomocí MWCNT za použití nafionu jako polymeru byly použity dva typy elektrod, jednak elektroda ze skelného uhlíku a jednak pět uhlíkových pastových elektrod o stejném vnitřním průměru. Pět různých CPE bylo použito pro porovnání jejich odezvy po nanesení MWCNT/Naf filmu (číslování elektrod má pouze orientační význam).

3.2.1. Opakovatelnost stanovení

Redoxní systém $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$

Stejně jako v případě GCE/MWCNT/AcN (Kap. 3.1.1) bylo nejprve charakterizováno chování modifikovaných elektrod na redoxním systému $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl. Byla provedena opakovaná stanovení tohoto systému na obou typech elektrod, a to jak na jednom nanesení MWCNT/Naf filmu, tak po jeho obnově mezi jednotlivými pokusy.

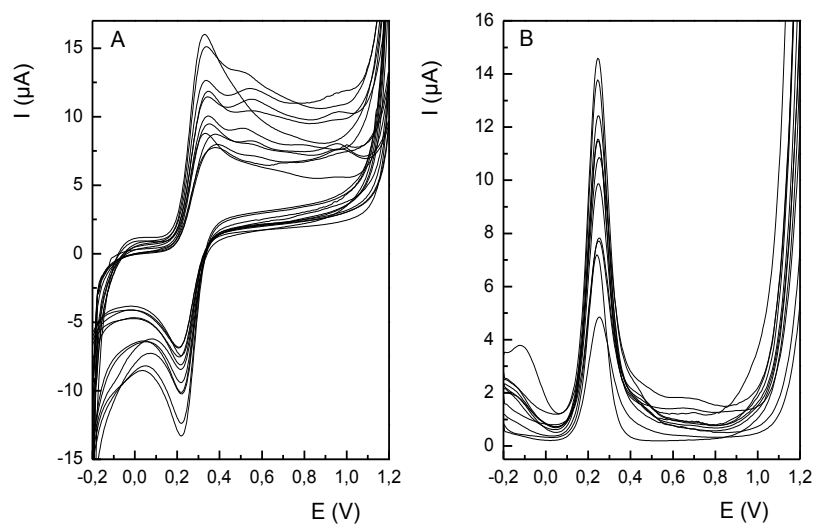
Na Obr. 3.17 je zaznamenán průběh opakovaných stanovení systému $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ na CPE/MWCNT/Naf za použití technik CV a DPV, každá z pěti elektrod byla pro měření použita dvakrát vždy s nově naneseným filmem. Z obou přiložených voltamogramů je patrné, že proudová odezva modelové látky byla výrazně odlišná, a to jak mezi jednotlivými elektrodami (CPE 1 – 5), tak na konkrétní CPE s nově naneseným filmem. Rozdíly ve výšce

píku pro obě metody stanovení jsou vyobrazeny na Obr. 3.18. Rozdíly ve výšce píku při stanovení daného redoxního systému změřeného pomocí konkrétní CPE na jednom nánosu MWCNT/Naf filmu se liší podstatně méně, než při použití metody obnovy filmu mezi jednotlivými pokusy (Obr. 3.19). Pro ilustraci je na Obr. 3.20 znázorněna proudová závislost tohoto systému na potenciálu vloženém na jednu z uhlíkových pastových elektrod (CPE 1).

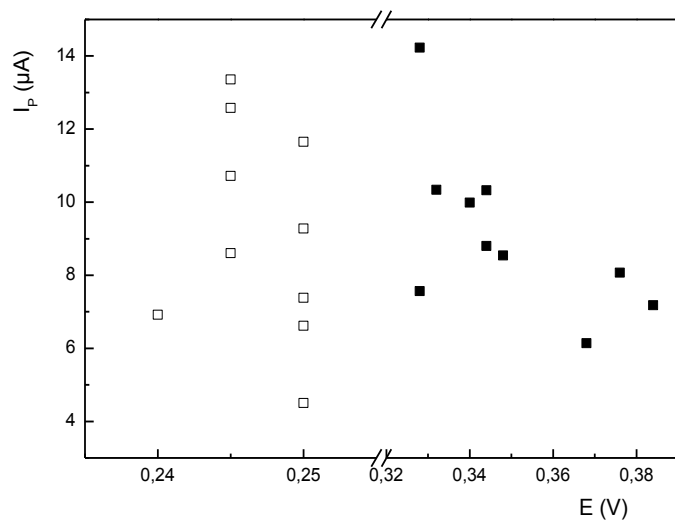
Elektroda ze skelného uhlíku poskytovala v porovnání s použitými CPE mnohem lepší opakovatelnost experimentu při následných měření na jednom MWCNT/Naf filmu, a to jak pro cyklickou, tak diferenční pulzní voltametrii, jak je patrné z Obr. 3.21. Pokud byla prováděna obnova filmu GCE mezi jednotlivými pokusy, byly získané výsledky značně nereprodukovatelné (Obr. 3.22). Grafy na Obr. 3.23 zobrazují rozdíly ve velikosti odezvy GCE/MWCNT/Naf při zmíněných postupech opakovaných stanovení. V Tab. 3.5 jsou zdokumentovány relativní směrodatné odchylky výšek píků $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ pro všechny použité elektrody. Je zjevné, že metoda opakovaného stanovení na jednom filmu je v případě MWCNT/Naf výhodnější pro oba druhy elektrod, RSD nepřesáhly, s výjimkou CPE 1 (DPV), hodnotu 5 %.

Tab. 3.5 Relativní směrodatné odchylky výšek píků redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl získané voltametriky za použití CPE/MWCNT/Naf a GCE/MWCNT/Naf.

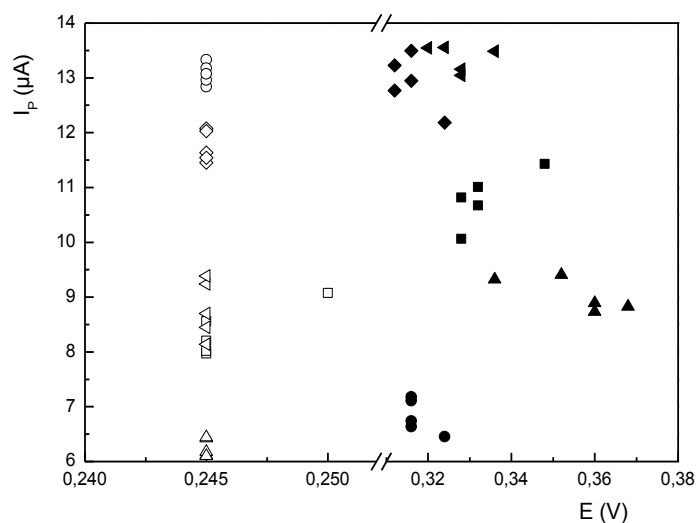
Elektroda	RSD, %			
	Jeden film		Obnova filmu	
	CV	DPV	CV	DPV
CPE 1	4,6	5,6		
CPE 2	4,6	1,6		
CPE 3	3,4	2,7	28,8	26,7
CPE 4	3,8	2,5		
CPE 5	1,8	6,0		
GCE	1,9	1,2	45,8	62,4



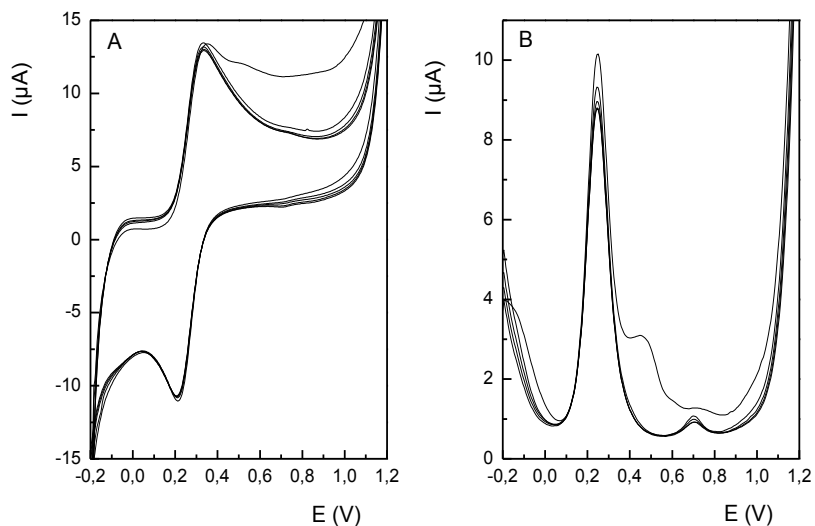
Obr. 3.17 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl, opakovaná měření na různých CPE (1 – 5) při obnově MWCNT/Naf filmu.



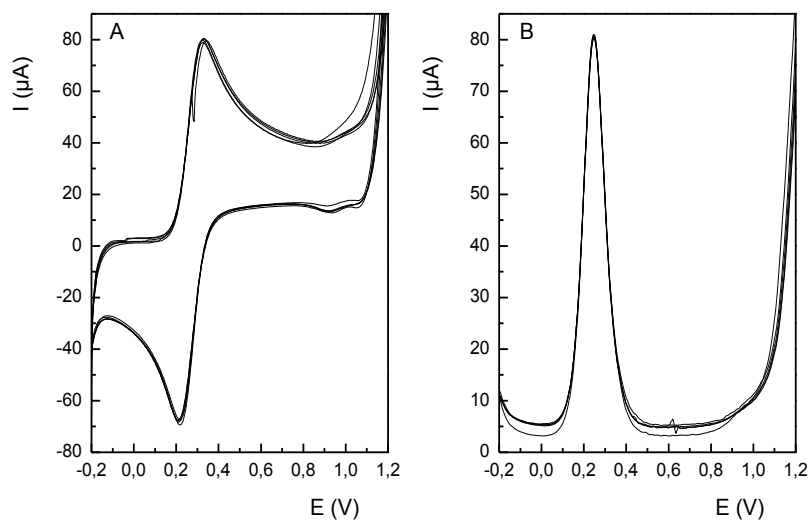
Obr. 3.18 Opakovatelnost voltamrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na různých CPE při obnově MWCNT/Naf filmu: CV (■), DPV (□).



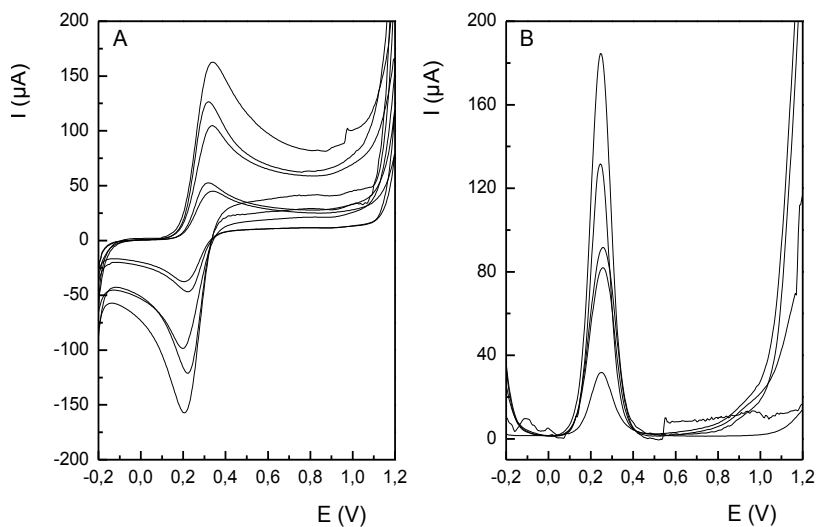
Obr. 3.19 Opakovatelnost voltametrického stanovení (CV, DPV) redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na jednom MWCNT/Naf filmu uhlíkové pastové elektrody – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3(△), CPE 4 (◇), CPE 5 (◁).



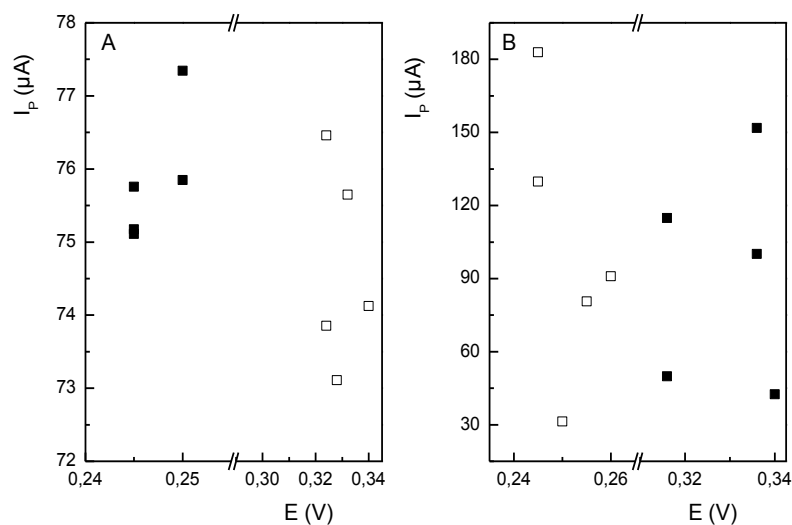
Obr. 3.20 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na CPE/MWCNT/Naf, opakovaná měření na jednom filmu.



Obr. 3.21 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/Naf, opakovaná měření na jednom filmu.



Obr. 3.22 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/Naf, opakovaná měření při obnově filmu.



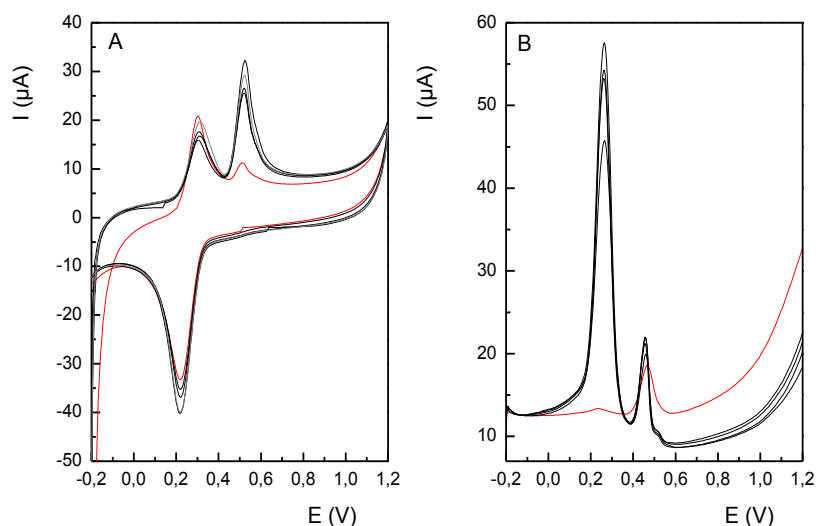
Obr. 3.23 Opakovatelnost voltametrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$ na jednom MWCNT/Naf filmu (A) naneseném na GCE a při jeho obnově (B): ■ CV, □ DPV.

Butylhydroxyanisol

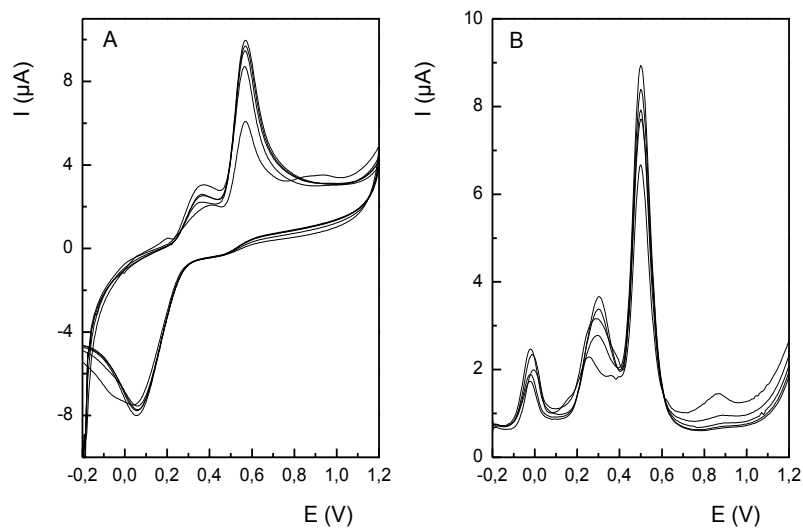
Na základě opakovaných voltametrických experimentů s použitím redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ se jako výhodnější pro tento typ modifikace jevílo měření na jednom filmu naneseném na dané elektrodě. Situace ovšem není tak jednoznačná při stanovení butylhydroxyanisolu. Při prvním měření byla získána podstatně menší odezva analytu než při dalších opakováních experimentu. Změna ve výšce píku je mnohem výraznější při použití GCE jako pracovní elektrody (Obr. 3.24), u CPE nejsou tyto rozdíly tak viditelné (Obr. 3.25). Variabilita signálu obou druhů elektrod získaného měřením na obnovovaném povrchu je také vysoká (Obr. 3.26, Obr. 3.27). Z Tab. 3.6, stejně jako z Obr. 3.28, Obr. 3.29 a Obr. 3.30 je vidět, že opakované experimenty pro BHA nejsou reprodukovatelné, a to ani při měření na jednom naneseném MWCNT/Naf filmu, ani při jeho obnově. Z porovnání těchto výsledků s výsledky získanými modifikací elektrod filmem obsahujícím acetonitril je patrné, že při použití polymerního nafionu je pravděpodobně disperze uhlíkových nanotrubiček ještě méně pravidelná, hustota CNT na povrchu elektrody u jednotlivých nánosů není homogenní a odezva elektrody má nevyhovující reprodukovatelnost.

Tab. 3.6 Relativní směrodatné odchylky výšek píků BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 získané voltametricky za použití CPE/MWCNT/Naf a GCE/MWCNT/Naf.

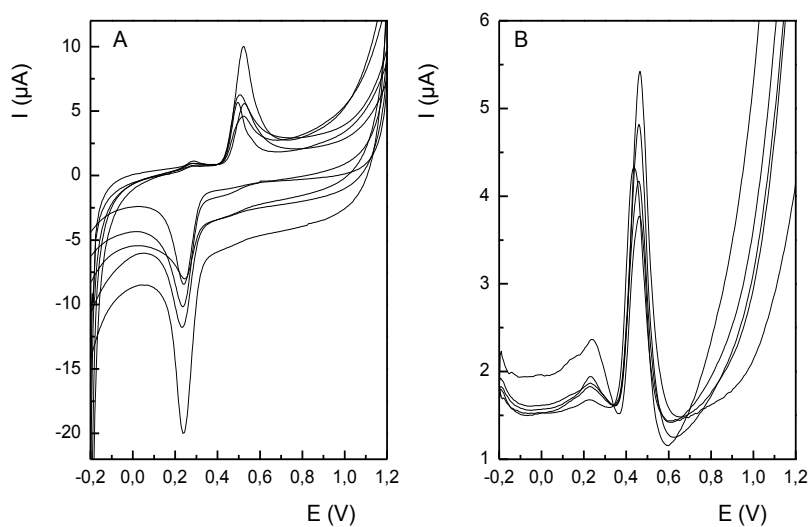
Elektroda	RSD, %			
	Jeden film		Obnova filmu	
	CV	DPV	CV	DPV
CPE 1	21,5	13,0		
CPE 2	19,6	17,4		
CPE 3	26,4	21,2	20,9	23,9
CPE 4	21,5	31,8		
CPE 5	21,5	12,6		
GCE	42,2	21,3	41,1	21,0



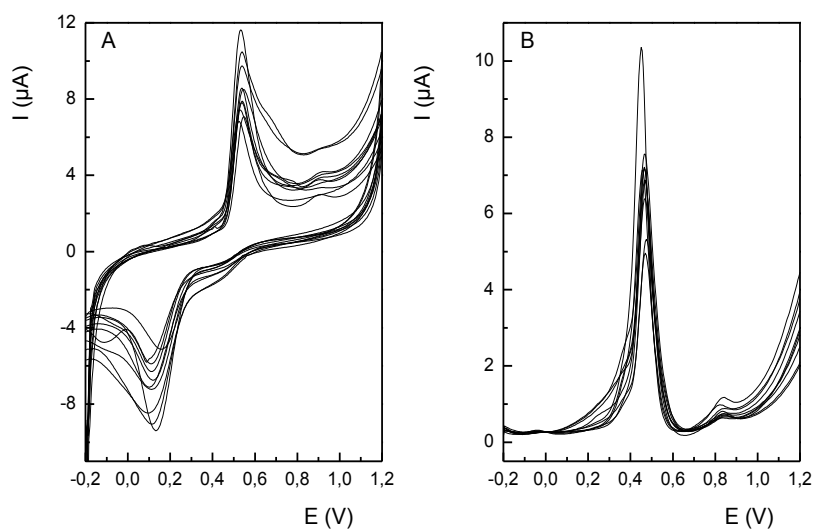
Obr. 3.24 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/Naf, opakovaná měření na jednom filmu; — 1. měření.



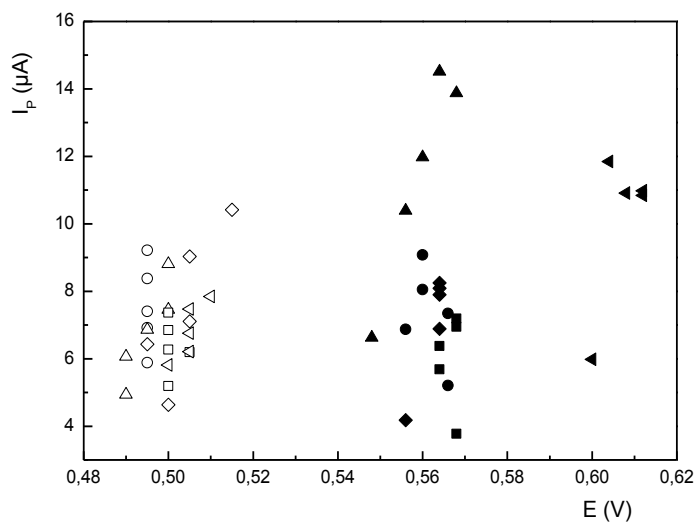
Obr. 3.25 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na CPE/MWCNT/Naf, opakovaná měření na jednom filmu.



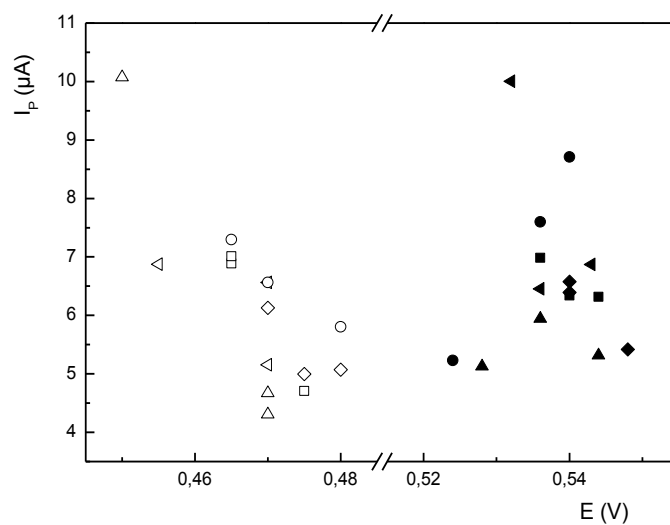
Obr. 3.26 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/Naf, opakovaná měření při obnově filmu.



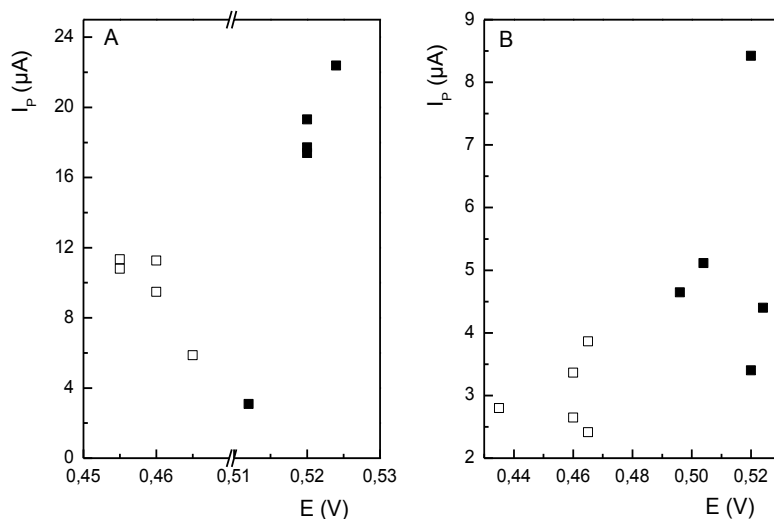
Obr. 3.27 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0; opakovaná měření na různých CPE (1 – 5) při obnově MWCNT/Naf filmu.



Obr. 3.28 Opakovatelnost voltametričkého stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na jednom MWCNT/Naf filmu naneseném na CPE – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3(△), CPE 4 (◇), CPE 5 (◁).



Obr. 3.29 Opakovatelnost voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 při obnově filmu MWCNT/Naf filmu naneseného na CPE – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3(△), CPE 4 (◇), CPE 5 (◁).



Obr. 3.30 Opakovatelnost voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na jednom MWCNT/Naf filmu (A) naneseném na GCE a při jeho obnově (B): ■ CV, □ DPV.

Přímé nanesení suspenze modifikátoru na povrch pracovní elektrody není jediným možným způsobem modifikace (viz. Kap. 1.2.1). Pro srovnání byla pro kombinaci MWCNT/Naf provedena úprava aktivního povrchu elektrody jejím ponořením do suspenze, která byla předem 10 min ultrasonikována. Elektroda byla do suspenze ponořena po dobu 30 min a následně sušena na vzduchu za laboratorních podmínek. Tento způsob modifikace byl aplikován na oba použité druhy elektrod. Vrstva suspenze na povrchu elektrody po jejím zaschnutí byla výrazně větší ve srovnání s přímým nanesením filmu. Tloušťka vrstvy se lišila při každé nové přípravě. Na takto modifikované elektrodě byla prováděna stanovení BHA pouze po pravidelném obnovování MWCNT/Naf vrstvy mezi jednotlivými experimenty. Opakovaná měření na jednom naneseném filmu nebyla možná, jelikož v důsledku své tloušťky měla vrstva tendenci se odlupovat. Relativní směrodatné odchylky proudové odezvy pro stanovení BHA na CPE 1 – 5 a GCE jsou uvedeny v Tab. 3.7. Jak je vidět, ani jedna z voltametrických technik neposkytuje reprodukovatelné výsledky ani s tímto způsobem elektrodové modifikace. Jedinou výjimkou je CV stanovení BHA na GCE/MWCNT/Naf, kdy RSD činila 2,1 %. Takto přesný výsledek je však pravděpodobně pouhou náhodou a při větším množství opakovaných měření by se RSD podstatně zvýšila.

Tab. 3.7 Relativní směrodatné odchylky výšek píků BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 získané voltametricky za použití CPE/MWCNT/Naf a GCE/MWCNT/Naf; modifikace elektrody ponořením do suspenze modifikátoru.

Elektroda	RSD, %	
	CV	DPV
CPE 1 – 5	59,1	37,1
GCE	2,1	16,2

3.3. Modifikace MWCNT/Chit filmem

Stejně jako v případě modifikátoru obsahujícím nafion byly filmem MWCNT/Chit upraveny oba druhy pracovních elektrod, tedy elektroda ze skelného uhlíku a 5 různých CPE o stejném vnitřním průměru.

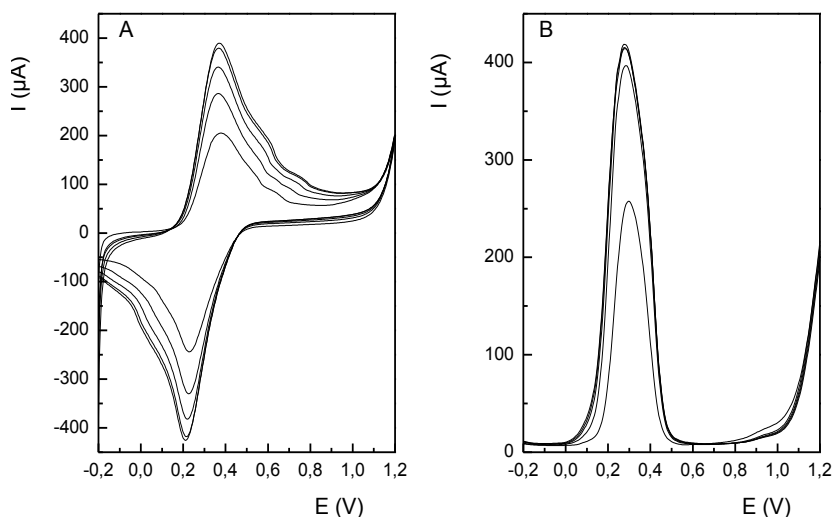
3.3.1. Opakovatelnost stanovení

Redoxní systém $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$

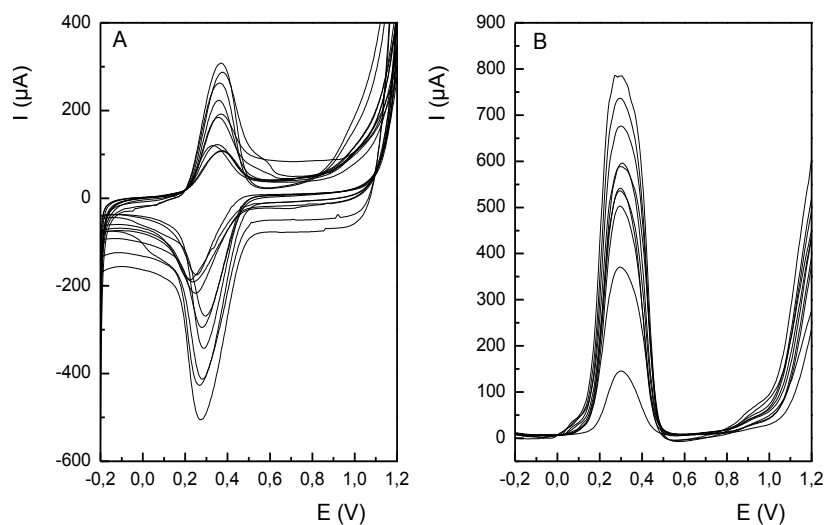
Byla ověřena odezva MWCNT/Chit modifikovaných elektrod pomocí redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl. Na Obr. 3.31 a Obr. 3.32 je vyobrazen průběh voltametrického chování tohoto systému na uhlíkové pastové elektrodě. Je patrné, že ve srovnání s chováním $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ na CPE modifikovaných MWCNT/AcN či MWCNT/Naf filmem vykazuje mnohem větší variabilitu výsledků při opakovaných měřeních, a to jak na jednom filmu (Obr. 3.31), tak po jeho obnově mezi jednotlivými pokusy (Obr. 3.32). Rozdíly ve výšce píku redoxního systému jsou patrné nejen mezi jednotlivými elektrodami (CPE 1 – 5, Obr. 3.33), ale i při stanovení na jedné elektrodě (Obr. 3.34). Odezvy jednotlivých elektrod jsou značně variabilní. V případě stanovení systému na neobnovovaném povrchu GCE/MWCNT/Chit (Obr. 3.35) jsou píky jak u CV, tak u DPV velmi dobře definované a rozdíly v jejich výšce nejsou tolik významné. Ačkoliv se RSD u obou těchto metod pohybují v okolí 15 %, jde o jeden z nejlepších výsledků získaných při modifikaci CPE i GCE filmem obsahující jako pojivo chitosan. Na Obr. 3.36, kde jsou vyobrazeny cyklické a diferenční pulzní voltamogramy opakovaného stanovení $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ na GCE s filmem obnovovaným mezi jednotlivými pokusy, je variabilita odezvy této elektrody v závislosti na naneseném MWCNT/Chit filmu výrazná. Zejména u cyklické voltametrie, jak je vidět i z Obr. 3.37 A a B, se relativní směrodatná odchylka výšky píku systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ pohybuje ve velmi vysokých hodnotách (124 %) a ukazuje na extrémní nepřesnost stanovení, která byla pravděpodobně způsobena velkou proměnlivostí hustoty MWCNT nanesených na povrchu GCE. Pro představu jsou v Tab. 3.8 uvedeny i relativní směrodatné odchylky pro ostatní zmíněná stanovení tohoto redoxního systému.

Tab. 3.8 Relativní směrodatné odchytky výšek píků redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl získané voltametriky za použití CPE/MWCNT/Chit a GCE/MWCNT/Chit.

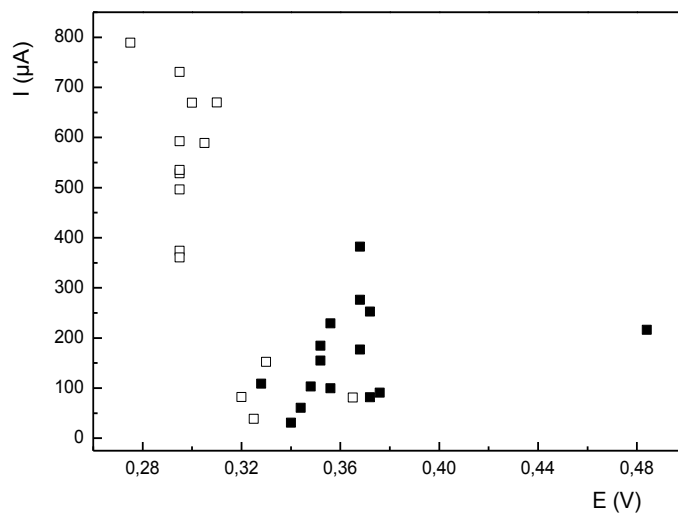
Elektroda	RSD, %			
	Jeden film		Obnova filmu	
	CV	DPV	CV	DPV
CPE 1	36,3	7,7		
CPE 2	24,1	16,9		
CPE 3	42,8	13,2	61,6	47,7
CPE 4	45,6	30,0		
CPE 5	52,1	7,1		
GCE	13,8	14,5	123,6	33,0



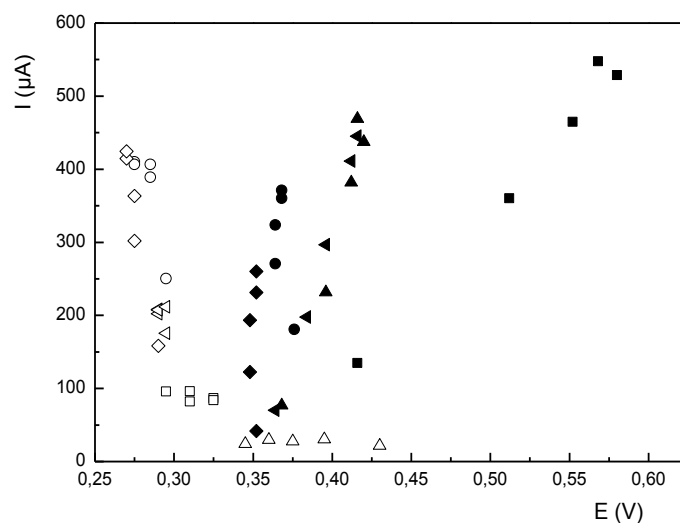
Obr. 3.31 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/Chit, opakovaná měření na jednom filmu.



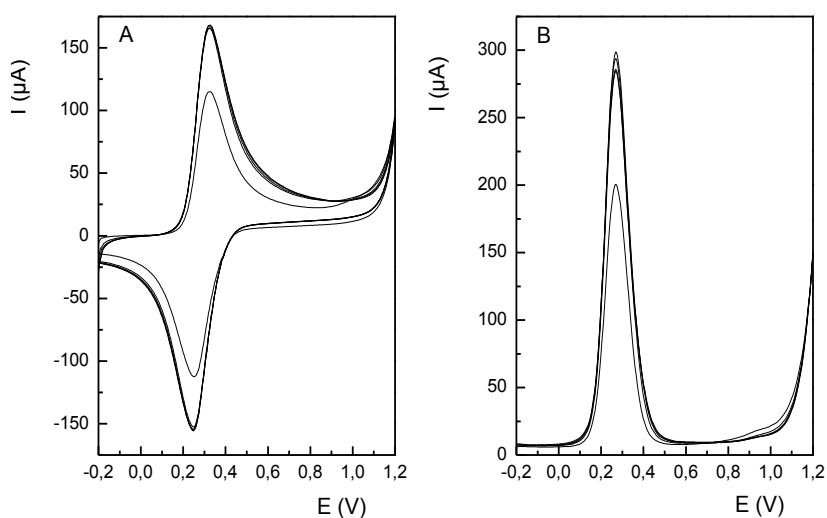
Obr. 3.32 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl, opakovaná měření na různých CPE (1 – 5) při obnově MWCNT/Chit filmu.



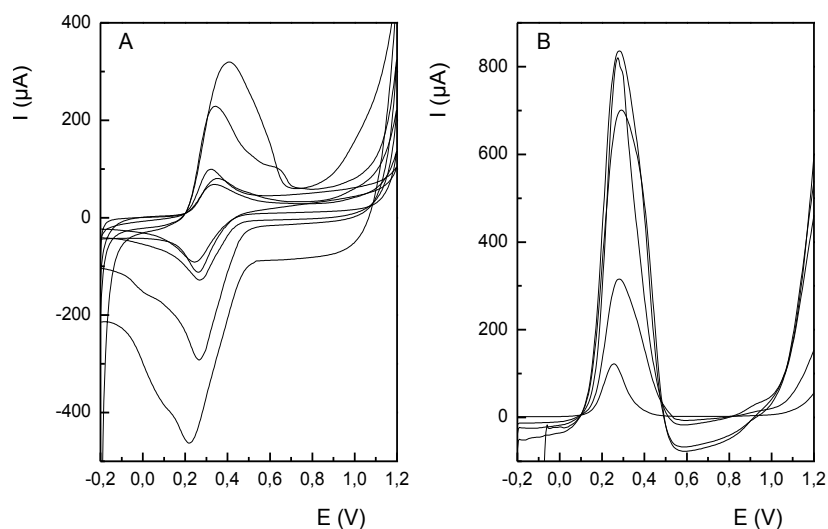
Obr. 3.33 Opakovatelnost voltametrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na různých CPE při obnově MWCNT/Chit filmu: CV (■), DPV (□).



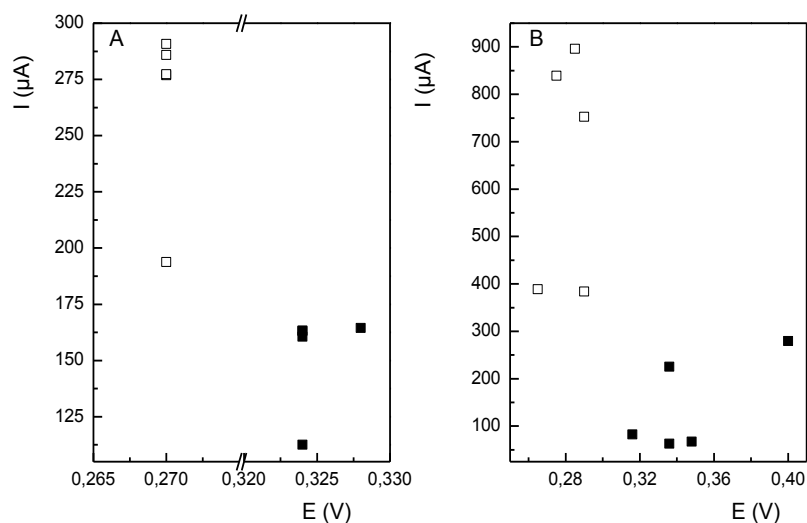
Obr. 3.34 Opakovatelnost voltametrického stanovení (CV, DPV) redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na jednom MWCNT/Chit filmu uhlíkové pastové elektrody – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3(△), CPE 4 (◇), CPE 5 (◁).



Obr. 3.35 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/Chit, opakovaná měření na jednom filmu.



Obr. 3.36 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na GCE/MWCNT/Chit, opakovaná měření při obnově filmu.



Obr. 3.37 Opakovatelnost voltametrického stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ($c = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí 1 mol l^{-1} KCl na jednom MWCNT/Chit filmu (A) naneseném na GCE a při jeho obnově (B): ■ CV, □ DPV.

Butylhydroxyanisol

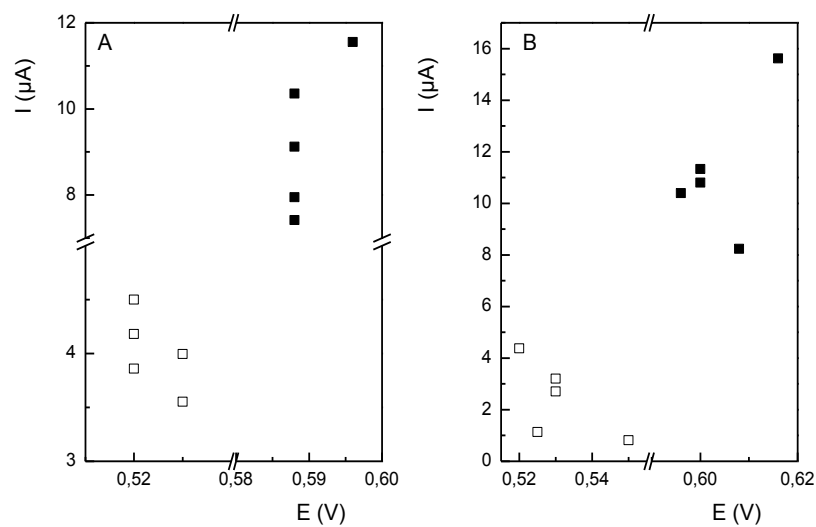
I přes nepříliš uspokojivé výsledky opakovatelnosti stanovení redoxního systému $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ byly opakovaně proměřeny cyklické i diferenční pulzní voltamogramy butylhydroxyanisolu ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na CPE (1 – 5) a GCE

modifikovaných MWCNT/Chit filmem. Butylhydroxyanisol je na všech přiložených voltamogramech druhým ze dvou viditelných píků.

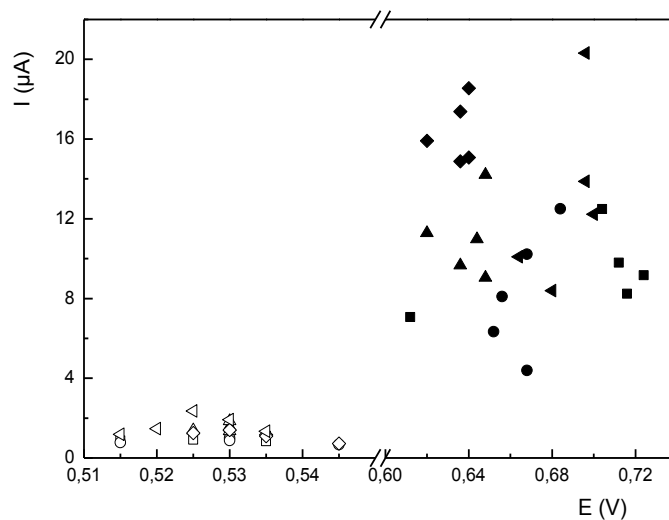
Výšky píku získané opakovaným stanovením butylhydroxyanisolu na GCE/MWCNT/Chit i CPE/MWCNT/Chit byly značně nereprodukovatelné. Z Obr. 3.38 (GCE/MWCNT/Chit), Obr. 3.39 a Obr. 3.40 (CPE/MWCNT/Chit) je vidět rozdílnost velikosti analytického signálu získaného metodami CV i DPV při měření na jednom filmu a po jeho obnově mezi danými experimenty. V Tab. 3.9 jsou uvedeny relativní směrodatné odchylky výšek píku všech zmíněných metod. Je patrné, že žádná z těchto metod neposkytovala vyhovující výsledky, RSD se zpravidla pohybovala nad 10 %. Nejméně přesná se ukázala být stanovení analytu na elektrodách, jejichž povrch byl před každým měřením nově upraven. Pro metodu diferenční pulzní voltametrie byly RSD vyšší než 50 % (Obr. 3.41, Obr. 3.42). Na obou těchto voltamogramech je vidět nejen odlišnost velikosti signálu analytu, ale i změna průběhu základní linie u DPV, která značně ztěžovala přesné vyhodnocení. Grafy na Obr. 3.43 a Obr. 3.43 znázorňují průběh stanovení BHA na modifikované GCE a CPE, kdy všechna opakovaná měření proběhla na jednom MWCNT/Chit filmu. Tímto způsobem práce pravděpodobně dochází, stejně jako v případě MWCNT/Naf modifikace, k akumulaci analytu na povrchu elektrody, a tedy nárůstu výšky jeho píku. Výška píku se však nezvyšuje lineárně s počtem provedených experimentů. U prvního měření je signál analytu většinou výrazně nižší než u ostatních, ale s dalšími pokusy nedochází k jeho postupnému zvyšování.

Tab. 3.9 Relativní směrodatné odchylky výšek píků BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 získané voltametricky za použití CPE/MWCNT/Chit a GCE/MWCNT/Chit.

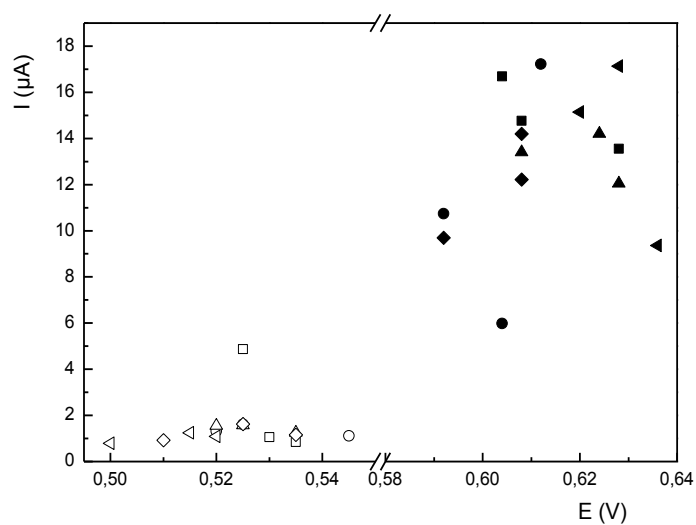
Elektroda	RSD, %			
	Jeden film		Obnova filmu	
	CV	DPV	CV	DPV
CPE 1	22,1	19,5		
CPE 2	39,3	16,6		
CPE 3	18,2	12,6	23,3	78,5
CPE 4	9,9	22,1		
CPE 5	37,6	32,5		
GCE	18,7	8,9	25,0	54,7



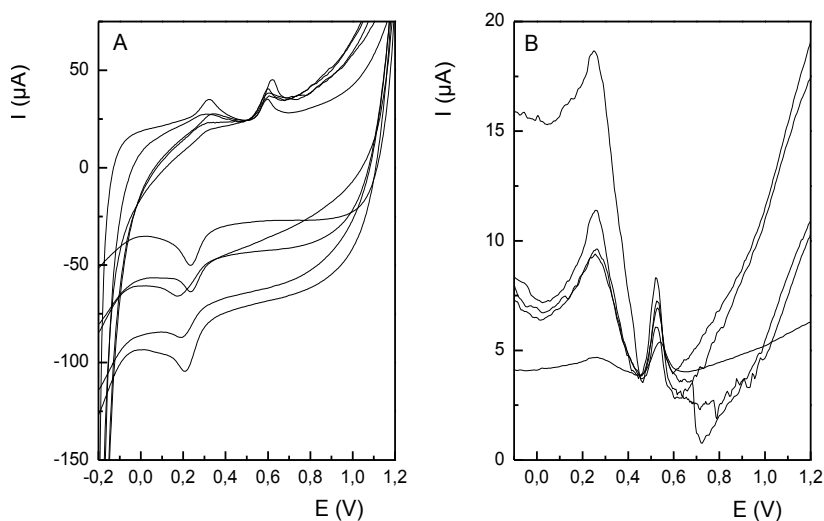
Obr. 3.38 Opakovatelnost voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na jednom MWCNT/Chit filmu (A) naneseném na GCE a při jeho obnově (B): ■ CV, □ DPV.



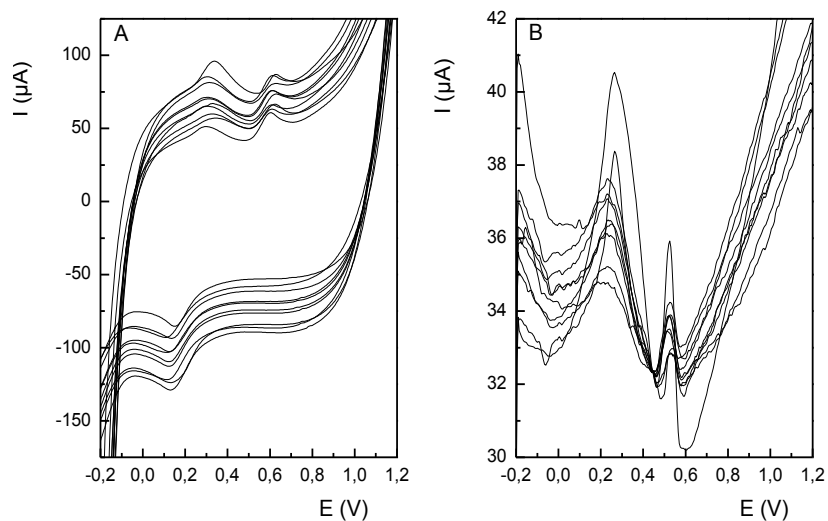
Obr. 3.39 Opakovatelnost voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na jednom MWCNT/Chit filmu naneseném na CPE – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3 (△), CPE 4 (◇), CPE 5 (◁).



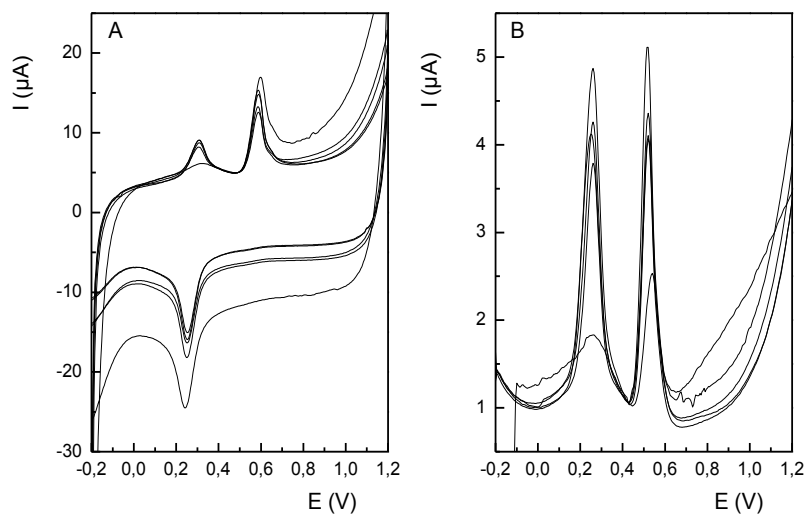
Obr. 3.40 Opakovatelnost voltametrického stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 při obnově filmu MWCNT/Chit filmu naneseného na CPE – CV: CPE 1 (■), CPE 2 (●), CPE 3 (▲), CPE 4 (◆), CPE 5 (◄); DPV: CPE1 (□), CPE 2 (○), CPE 3(△), CPE 4 (◇), CPE 5 (<).



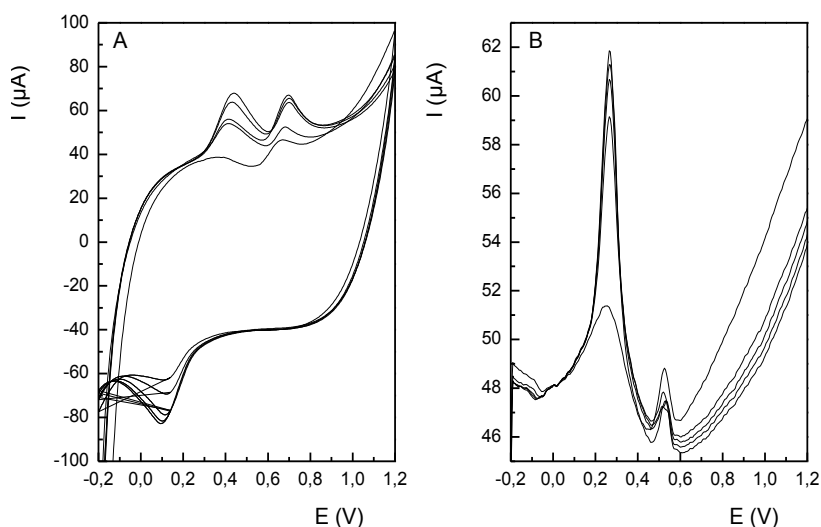
Obr. 3.41 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/Chit, opakovaná měření při obnově filmu.



Obr. 3.42 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0; opakovaná měření na různých CPE (1 – 5) při obnově MWCNT/Chit filmu.



Obr. 3.43 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/Chit, opakovaná měření na jednom filmu.



Obr. 3.44 Cyklické (A) a diferenční pulzní (B) voltamogramy BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na CPE/MWCNT/Chit, opakovaná měření na jednom filmu.

Pro úpravu povrchu pracovní elektrody byla stejně jako při modifikaci elektrod filmem s obsahem nafionu mimo jiné použita metoda ponoření elektrod do suspenze studovaných modifikátorů. Elektrody byly do suspenze MWCNT a chitosanu ponořeny po dobu 30 min a následně sušeny horkým vzduchem stejně jako při přípravě filmu přímým nanosením. Suspenzi bylo samotným ponořením elektrod nutné homogenizovat za pomoci ultrazvuku (15 min). Na takto modifikované elektrodě byl opakovaně stanovován butylhydroxyanisol na jednom naneseném filmu a po jeho obnově před každým měřením. Relativní směrodatné odchylky signálu analytu získané měřením s touto povrchovou úpravou elektrody dosahovaly mnohem vyšších hodnot než v případě modifikace přímým nanosením filmu. Vzhledem k nepřesnosti stanovení BHA oběma voltametričnými technikami (viz. Tab. 3.10) a časové náročnosti přípravy filmu nebyl tento způsob modifikace sledován přínosným a nadále mu nebyla věnována pozornost.

Tab. 3.10 Relativní směrodatné odchylky výšek píků BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 získané voltametričsky za použití CPE/MWCNT/Chit a GCE/MWCNT/Chit; modifikace elektrody ponořením do suspenze modifikátoru.

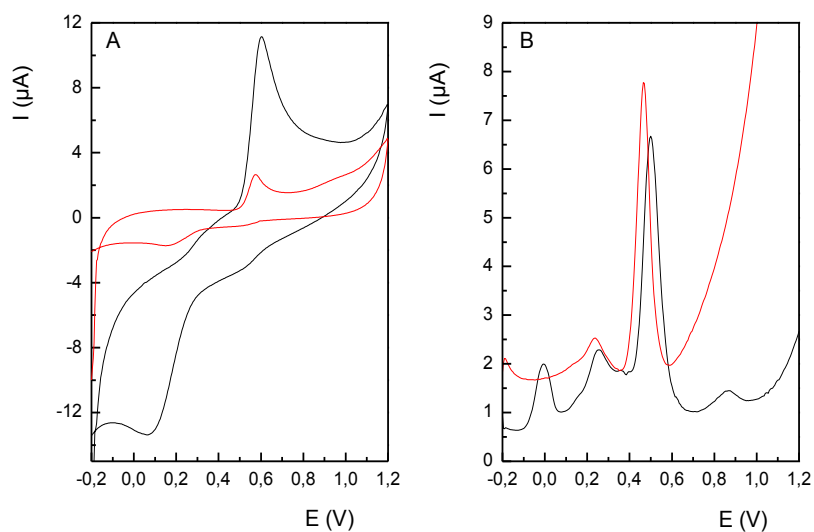
Elektroda	RSD, %	
	CV	DPV
CPE 1 – 5	50,7	39,7
GCE	31,1	43,3

3.4. Srovnání odezvy elektrody v závislosti na jejím druhu a modifikátoru

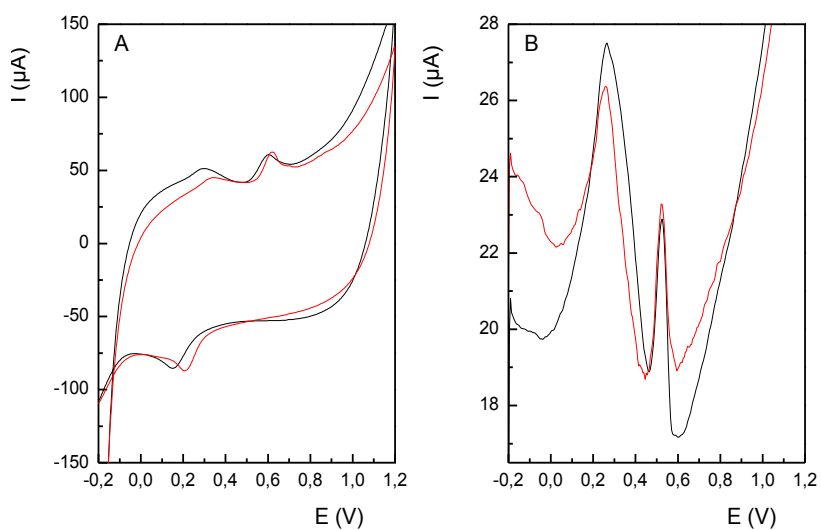
Jak již bylo zmíněno v Kap. 3.2 a Kap. 3.3, pro úpravu povrchu pracovních elektrod byla použita i modifikace jejich ponořením do suspenze uhlíkových nanotrubiček s daným pojivem. Oproti úpravě povrchu přímým nanosením suspenze na aktivní povrch elektrody tato metoda poskytuje mnohem méně přesné výsledky. Další značnou nevýhodou tohoto způsobu modifikace je jeho velká časová náročnost. MWCNT/Chit film vyžadoval delší dobu sušení (10 min). V případě potřeby většího množství stanovení na nově vytvořeném filmu by docházelo k dlouhým prodlevám a tomuto způsobu úpravy elektrody tedy vzhledem k daným okolnostem nebyla nadále věnována pozornost.

Vzhledem k tomu, že v této práci byly použity dva druhy pracovních elektrod a jejich modifikace, byly porovnány odezvy obou druhů elektrod mezi sebou, odezvy elektrody modifikované a nemodifikované a odezvy daného druhu elektrody v závislosti na jejím modifikátoru.

Srovnání velikosti analytického signálu poskytovaného elektrodou ze skelného uhlíku a uhlíkovou pastovou elektrodou bylo možné pro modifikace suspenzemi obsahujícími nafion a chitosan. MWCNT/AcN filmy nebyly, jak již bylo zmíněno v Kap. 3.1, aplikovány na CPE. Obecně nelze říct, že by odezva jednoho z použitých druhů elektrod byla lepší či horší než odezva druhého (Obr. 3.45, Obr. 3.46). Ovšem pokud se zaměříme na Obr. 3.45, je vidět, že při CV stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/Naf je výška píku analytu podstatně menší než při použití CPE/MWCNT/Naf. Tato situace je poněkud zvláštní vzhledem k faktu, že při měření technikou DPV jsou píky stanovované látky na obou modifikovaných elektrodách srovnatelně vysoké. Stejně tak voltamogramy stanovení tohoto analytu s použitím MWCNT/Chit jako modifikátoru (Obr. 3.46) ukazují na přibližně stejnou odezvu GCE a CPE při použití obou voltametrických metod.



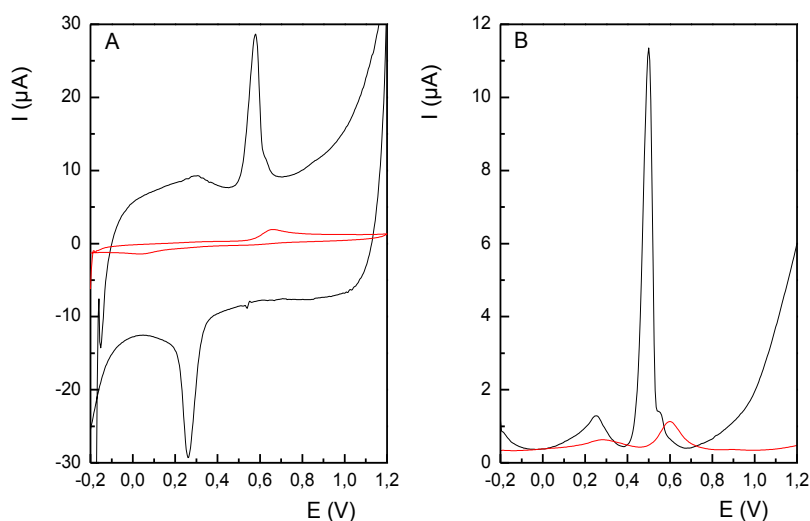
Obr. 3.45 Srovnání velikosti odezvy elektrody ze skelného uhlíku (—) a uhlíkové pastové elektrody (—) modifikovaných MWCNT/Naf filmem při CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0.



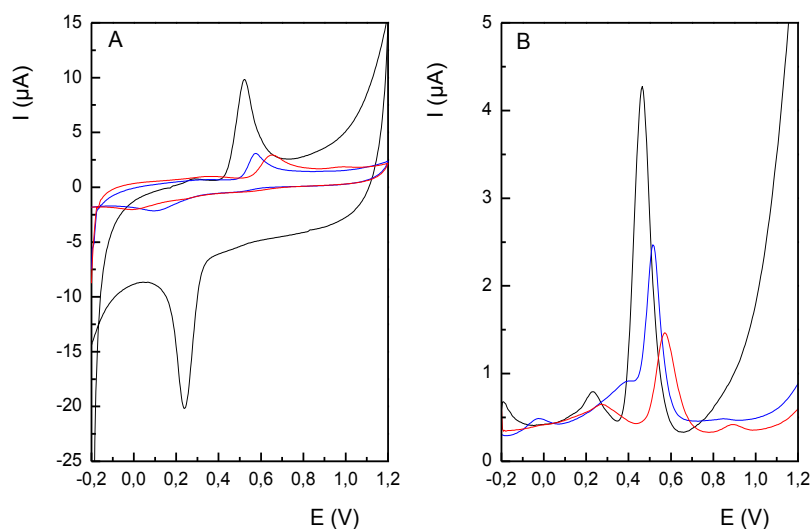
Obr. 3.46 Srovnání velikosti odezvy elektrody ze skelného uhlíku (—) a uhlíkové pastové elektrody (—) modifikovaných MWCNT/Chit filmem při CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0.

Jak bylo uvedeno v teoretické části této práce, přítomnost CNT na povrchu elektrody zvyšuje analytickou odezvu stanovené látky oproti elektrodě jimi nemodifikované. Pro kombinaci MWCNT/Naf a MWCNT/Chit byla prověřena také rozdílnost odezvy elektrody i za pouhé přítomnosti polymerního pojiva.

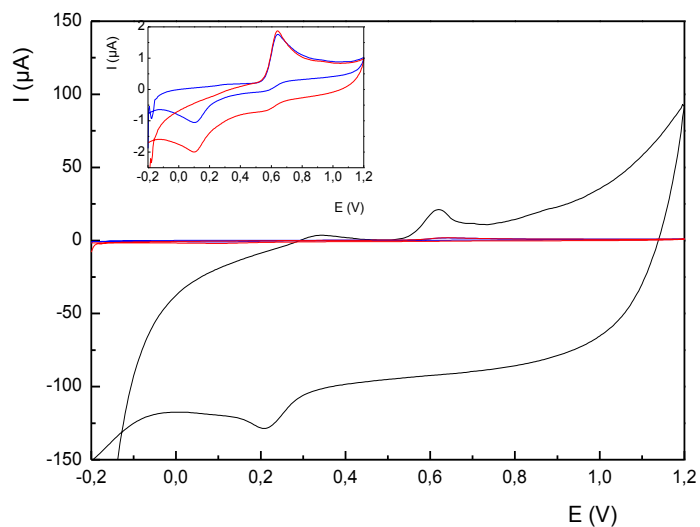
Elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná uhlíkovými nanotrubičkami v kombinaci se všemi třemi použitými druhy pojiva poskytuje při stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 vyšší analytický signál. V případě použití GCE/MWCNT/AcN je rozdíl mezi výškou píku analytu na modifikované a nemodifikované elektrodě poměrně velký (Obr. 3.47), využití této modifikace je tedy pro jeho stanovení výhodné. Analytický signál získaný GCE/MWCNT/Naf v porovnání s GCE bez povrchové úpravy je také značně vyšší, a stejně tak dojde k jeho zvýšení nanesením filmu samotného nafionu (Obr. 3.48). Z cyklického voltamogramu je patrné, že pík BHA s použitím obou filmů lépe definovaný než na nemodifikované elektrodě. Cyklický (Obr. 3.49) a diferenčně pulzní (Obr. 3.50) voltamogramy získané měřením na GCE modifikované MWCNT/Chit filmem ukazují nejen zlepšení odezvy oproti neupravené elektrodě, ale také velké zvýšení proudu pozadí daného stanovení, což zejména u CV může značně zkreslit vyhodnocení jeho průběhu. Samotný chitosanový film na GCE neposkytuje výrazně lepší výsledky než neupravená elektroda.



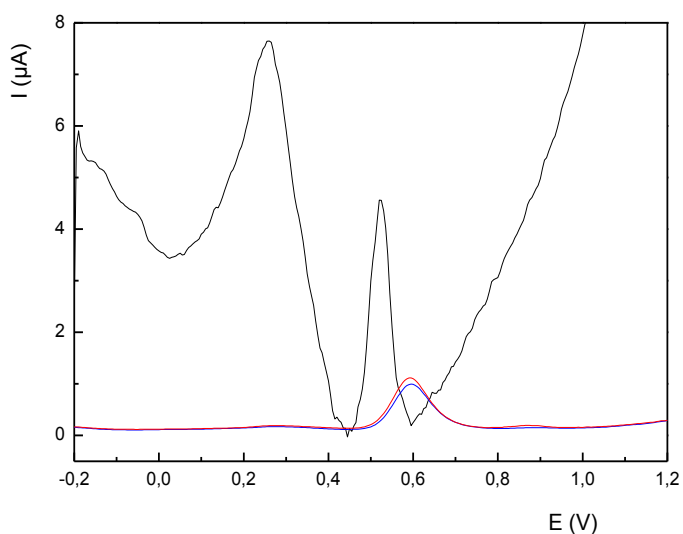
Obr. 3.47 Srovnání průběhu CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované GCE (—), GCE/MWCNT/AcN (—).



Obr. 3.48 Srovnání průběhu CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované GCE (—), GCE modifikované Naf filmem (—) a GCE/MWCNT/Naf (—).

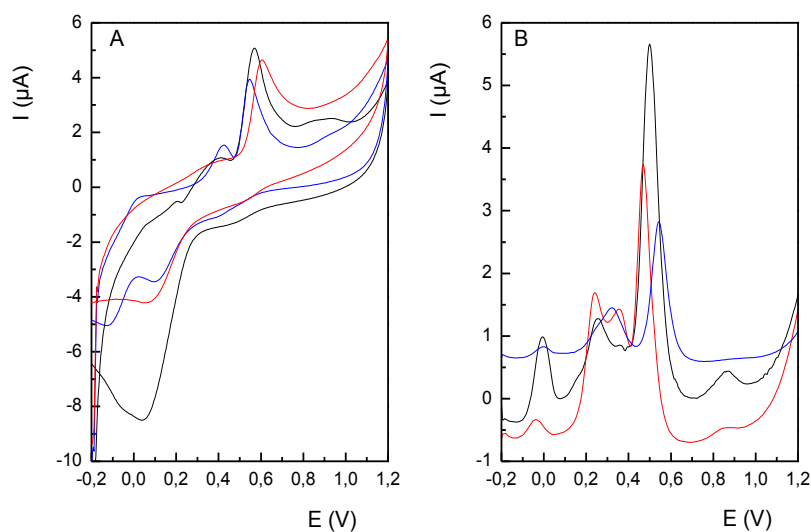


Obr. 3.49 Srovnání průběhu CV stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované GCE (—), GCE modifikované Chit filmem (—) a GCE/MWCNT/Chit (—), na vloženém obrázku je zaznamenán průběh stanovení na GCE/Chit (—) a GCE (—).

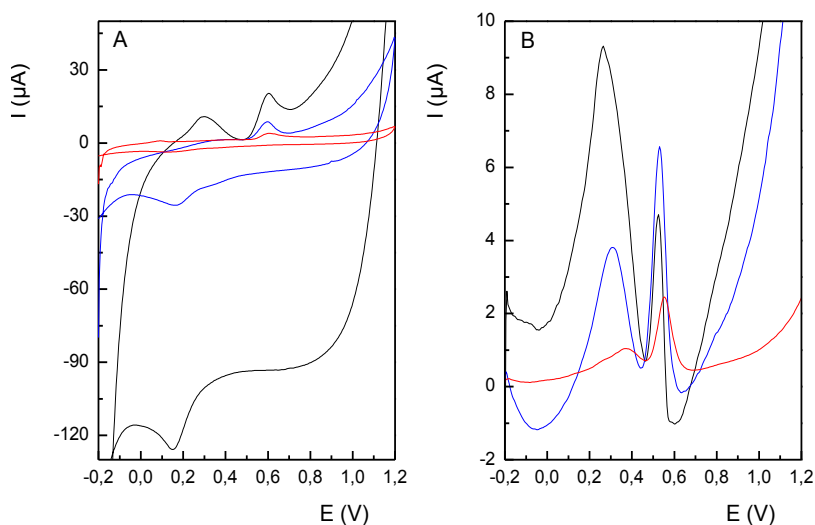


Obr. 3.50 Srovnání průběhu DPV stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované GCE (—), GCE modifikované Chit filmem (—) a GCE/MWCNT/Chit (—).

Na rozdíl od elektrody ze skelného uhlíku, kde byly změny v odezvě s použitím všech MWCNT filmů výrazné, v případě CPE k tak velkým rozdílům nedochází. MWCNT/Naf film nanesený na tomto druhu elektrody způsobí mírné zvýšení analytického signálu BHA, ovšem pokud jde pouze o Naf film nejsou takové změny patrné (Obr. 3.51). Obdobná situace nastává i u modifikace MWCNT/Chit filmem, kdy je výška píku analytu změřeného na modifikované elektrodě technikou CV nepatrně vyšší než na CPE/Naf nebo CPE. U DPV modifikace nanotrubičkami a chitosanem způsobuje vyšší citlivost elektrody ve srovnání s nemodifikovanou, zatímco proti elektrodě modifikované chitosanovým filmem je odezva naopak menší (Obr. 3.52).



Obr. 3.51 Srovnání průběhu CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované CPE (—), CPE modifikované Naf filmem (—) a CPE/MWCNT/Naf (—).

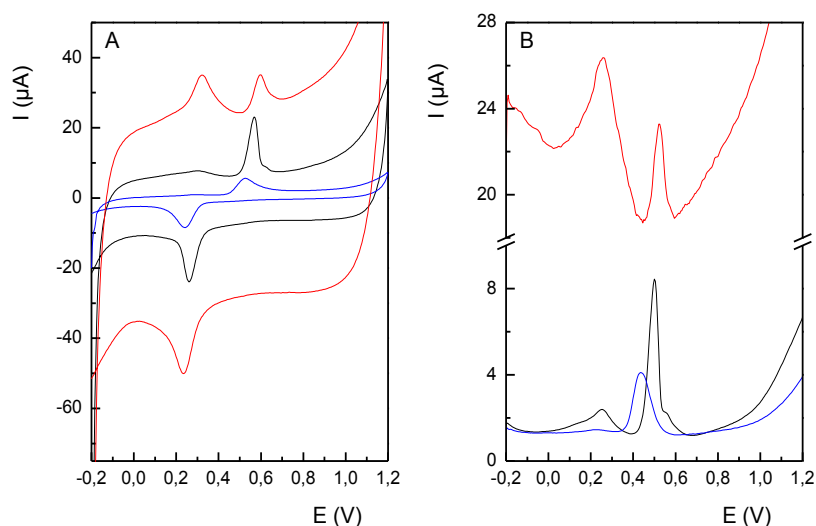


Obr. 3.52 Srovnání průběhu CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na nemodifikované CPE (—), CPE modifikované Chit filmem (—) a CPE/MWCNT/Chit (—).

Na závěr bylo provedeno porovnání odezvy elektrody modifikované MWCNT/AcN, MWCNT/Naf a MWCNT/Chit filmem. Pro srovnání byla použita elektroda ze skelného uhlíku, kterou bylo, na rozdíl od CPE, možné modifikovat všemi třemi způsoby. Z cyklických i diferenčních pulzních voltamogramů na Obr. 3.53 je vidět, že nejlepší odezvu poskytují

GCE modifikovaná filmem obsahujícím acetonitril, pík BHA je v tomto případě nejvyšší a nejlépe definovaný. Stanovení analytu na elektrodě modifikované MWCNT/Naf filmem je zjevně nejméně výhodné co se týče velikosti analytického signálu. Avšak ve srovnání s průběhem stanovení na GCE/MWCNT/Chit je při použití nafionu jako pojiva výhodnější nižší proud pozadí a vhodnější průběh základní linie, který umožňuje přesné odečtení velikosti signálu analytu.

Vzhledem k výše zmiňovaným postupům přípravy a získaným výsledkům byla pro stanovení butylhydroxyanisolu jako nejvýhodnější zvolena modifikace elektrod filmem MWCNT/AcN, ačkoliv není použitelná pro uhlíkové pastové elektrody. Modifikace filmem s obsahem chitosanu byla nevhodná kvůli zdlouhavosti přípravy filmu a nejhorším analytickým výsledkům ze všech použitých modifikací.



Obr. 3.53 Srovnání průběhu CV (A) a DPV (B) stanovení BHA ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol l}^{-1}$) v prostředí BR pufru o pH 2,0 na GCE/MWCNT/AcN (—), GCE/MWCNT/Naf (—) a GCE/MWCNT/Chit (—).

4. Závěr

V této práci bylo studováno voltametrické chování butylhydroxyanisolu a jeho odezva za použití elektrody ze skelného uhlíku a pěti uhlíkových pastových elektrod modifikovaných pomocí suspenze uhlíkových nanotrubiček s acetonitrilem, nafionem nebo chitosanem. Pro studium vlivu modifikace MWCNT/AcN filmem byla použita pouze elektroda ze skelného uhlíku, acetonitril obsažený v suspenzi s MWCNT by po nanesení na CPE způsobil degradaci uhlíkové pasty. Ostatní způsoby modifikace byly aplikovány na oba druhy elektrod.

Získané výsledky dokumentují účinnost použití modifikátorů s obsahem uhlíkových nanotrubiček. Butylhydroxyanisol poskytoval na modifikovaných elektrodách podstatně vyšší signál než na elektrodě bez jakékoliv úpravy. Velký rozdíl ve velikosti signálu je patrný zejména na modifikovaných GCE, u uhlíkových pastových elektrod není tento rozdíl tak významný. Opakovatelnost jednotlivých experimentů byla ovšem značně neuspokojivá a ani jedna z použitých voltametrických metod neposkytovala příliš přesné výsledky. Butylhydroxyanisol poskytoval nejlépe definované a zároveň nejvyšší analytické píky při stanovení na elektrodě ze skelného uhlíku modifikované MWCNT/AcN filmem.

Po zvážení získaných výsledků pro BHA a současně náročnosti přípravy jednotlivých modifikací byl jako nejperspektivnější zvolen MWCNT/AcN film nanesený na elektrodě ze skelného uhlíku. Tato modifikace byla vybrána také z toho důvodu, že GCE sama o sobě poskytovala výrazně lepší výsledky než uhlíkové pastové elektrody. Optimalizováno bylo pH Britton-Robinsonova pufru, ve kterém byl butylhydroxyanisol stanovován, a jako nejvhodnější se ukázalo pH o hodnotě 3, při němž byl pík látky dobře definovaný s dostatečně vysokým signálem.

Pro MWCNT/AcN film na elektrodě ze skelného uhlíku byly oběma voltametrickými metodami proměřeny kalibrační závislosti butylhydroxyanisolu v BR pufru o pH 3 v koncentračním rozmezí $1 \cdot 10^{-6} - 1 \cdot 10^{-4}$ mol l^{-1} . Dosažené meze detekce a meze stanovitelnosti (Tab. 5.1) nejsou z hlediska možných analytických aplikací vyhovující. Také linearita obou koncentračních závislostí nebyla ideální, odchylky byly způsobeny nepříliš přesnými výsledky při opakovaném stanovení jednotlivých kalibračních standardů.

Tab. 5.1 Meze detekce a stanovitelnosti butylhydroxanisolu v prostředí BR pufru o pH 3 získané voltametrickým stanovením na GCE/MWCNT/AcN.

Parametr	CV	DPV
LOD, mol l ⁻¹	1,6·10 ⁻⁵	3,7·10 ⁻⁵
LOQ, mol l ⁻¹	6,6·10 ⁻⁵	1,2·10 ⁻⁴

Literatura

- [1] Musameh M. M., Hickey M., Kyratzis I. L.: Carbon nanotube-based extraction and electrochemical detection of heavy metals. *Research on Chemical Intermediates* 37, 675 – 689 (2011).
- [2] Iijima S.: Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354, 56 – 58 (1991).
- [3] Rao G. P., Lu C., Su F.: Sorption of divalent metal ions from aqueous solution by carbon nanotubes: A review. *Separation and Purification Technology* 58, 224 – 231 (2007).
- [4] Jacobs C. B., Peairs M. J., Venton B. J.: Review: Carbon nanotube based electrochemical sensors for biomolecules. *Analytica Chimica Acta* 662, 105 – 127 (2010).
- [5] Manaf N. S. A., Bistamam M. S. A., Azam M. A.: Development of high performance electrochemical capacitor: A systematic review of electrode fabrication technique based on different carbon materials. *ECS Journal of Solid State Science and Technology* 2 (10), M3101 – M3119 (2013).
- [6] Afraz A., Rafati A. A., Hajian A.: Analytical sensing of hydrogen peroxide on Ag nanoparticles-multiwalled carbon nanotube-modified glassy carbon electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry* 17, 2017 – 2025 (2013).
- [7] Pumera M.: Nanomaterials for electrochemical sensing and biosensing. *Pan Stanford Publishing*, Singapore, ISBN 978-981-4364-90-4 (2014).
- [8] Trojanowicz M.: Analytical applications of carbon nanotubes: a review. *Trends in Analytical Chemistry* 25 (5), 480 – 489 (2006).
- [9] Ajayan P. M., Ebbesen T. W., Ichihashi T., Iijima S., Tanigaki K., Hiura H.: Opening carbon nanotubes with oxygen and implication for filling. *Nature* 362, 522 – 525 (1993).
- [10] Tsang S. C., Harris P. J. F., Green M. L. H.: Thinning and opening of carbon nanotubes by oxidation using carbon dioxide. *Nature* 362, 520 - 522 (1993).

- [11] Merkoçi A.: Carbon Nanotubes in Analytical Science. *Microchimica Acta* 152, 157 – 174 (2006).
- [12] Domun N., Hadavinia H., Zhang T., Sainsbury T., Liaghat G. H., Vahid S.: Improving the fracture toughness and the strength of epoxy using nanomaterials – a review of the current status. *Nanoscale* 7, 10294 - 10329 (2015).
- [13] Kong H. X.: Hybrids of carbon nanotubes and graphene/graphene oxide. *Current Opinion in Solid State and Materials Science* 17, 31 – 37 (2013).
- [14] Martins-Júnior P. A., Alcântara C. E., Resende R. R., Ferreira A. J.: Carbon nanotubes: Directions and perspectives in oral regenerative medicine. *Journal of Dental Research* 92 (7), 575 – 583 (2013).
- [15] Wang Q., Shi J., Ni J., Gao F., Weng W., Jiao K.: DNA hybridization biosensor using chitosan-carbon nanotubes composite film as an immobilization platform and [Cu(bpy)(MBZ)₂(H₂O)] (bpy = 2,2'-bipyridine, MBZ = *p*-methylbenzoate) as a novel redox indicator. *Electrochimica Acta* 56, 3829 – 3834 (2011).
- [16] Yang Y., Fang G., Liu G., Pan M., Wang X., Kong L., He X., Wang S.: Electrochemical sensor based on molecularly imprinted polymer film via sol-gel technology and multi-walled carbon nanotubes-chitosan functional layer for sensitive determination of quinoxaline-2-carboxylic acid. *Biosensors and Bioelectronics* 47, 475 – 481 (2013).
- [17] Equílaz M., Villalonga R., Agüí L., Yáñez-Sedeño P., Pingarrón J. M.: Gold nanoparticles: Poly(diallyldimethylammonium chloride)-carbon nanotubes composites as platform for the preparation of electrochemical enzyme biosensors: Application to the determination of cholesterol. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 661, 171 – 178 (2011).
- [18] Bi H., Li Y., Liu S., Guo P., Wei Z., Lv C., Zhang J., Zhao X. S.: Carbon-nanotube-modified glassy carbon electrode for simultaneous determination of dopamine, ascorbic acid and uric acid: The effect of functional groups. *Sensors and Actuators B* 171 – 172, 1132 – 1140 (2012).

- [19] Wang J., Li M., Shi Z., Li N., Gu Z., Electrocatalytic oxidation of norepinephrine at a glassy carbon electrode modified with single wall carbon nanotubes. *Electroanalysis* 14 (3), 225 – 230 (2002).
- [20] Liu X., Li L., Zhao X., Lu X.: Electrochemical behavior of rutin on a multi-walled carbon nanotube and ionic liquid composite film modified electrode. *Colloids and Surfactants B: Biointerfaces* 81, 344 – 349 (2010).
- [21] Aghayizadeh M. M., Nasirizadeh N., Bidoki S. M., Yazdanshenas M. E.: Electrochemical behavior of a thio-quinazoline derivate electrodeposited on a glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotubes: Application for simultaneous determination of hydroxylamine and nitrite. *Internation Journal of Electrochemical Science* 8, 8848 – 8862 (2013).
- [22] Ensafi A. A., Amini M., Rezaei B.: Biosensor based on ds-DNA decorated chitosan modified multiwalled carbon nanotubes for voltammetric biodetection of herbicide amitrole. *Colloids and Surfactants B: Biointerfaces* 109, 45-51 (2013).
- [23] Hočevár S. B., Wang J., Deo R. P., Musameh M., Ogorevc B.: Carbon nanotube modified microelectrode for enhanced voltammetric detection of dopamine in the presence of ascorbate. *Electroanalysis* 17 (5) – 6, 417 – 422 (2005).
- [24] Ensafi A. A., Heydari-Bafrooei E., Rezaei B.: Different interaction of codeine and morphine with DNA: A concept for simultaneous determination. *Biosensors and Bioelectronics* 41, 627 – 633 (2013).
- [25] Cesarino I., Moraes F. C., Lanza M. R. V., Machado S. A. S.: Electrochemical detection of carbamate pesticides in fruit and vegetables with a biosensor based on acetylcholinesterase immobilised on a composite of polyaniline-carbon nanotubes. *Food Chemistry* 135, 873 – 879 (2012).
- [26] Chawla S., Rawal R., Pundir C. S.: Fabrication of polyphenol biosensor based on laccase immobilized on copper nanoparticles/chitosan/multiwalled carbon nanotubes/polyaniline-modified gold electrode. *Journal of Biotechnology* 156, 39 – 45 (2011).

- [27] Ran G., Yi W. J., Luo H. Q., Li N. B.: Electrochemistry and electrocatalysis of a nanobiocomposite film containing hematin and carbon nanotubes-chitosan on a poly-(acridine red) modified glassy carbon electrode. *Analytical Methods* 4, 2929 – 2934 (2012).
- [28] Li Y., Cheng P., Gong J., Fang L., Deng J., Liang W., Zheng J.: Amperometric immunosensor for the detection of Escherichia coli O157:H7 in food specimens. *Analytical Biochemistry* 421, 227 – 233 (2012).
- [29] Li L., Liang B., Shi J., Li F., Mascini M., Liu A.: A selective and sensitive D-xylose electrochemical biosensor based on xylose dehydrogenase displayed on the surface of bacteria and multi-walled carbon nanotubes modified electrode. *Biosensors and Bioelectronics* 33, 100 – 105 (2012).
- [30] Xu Y., Wang F., Wang L., Zhao F., Yang B., Ye B.: Sensitive voltammetric sensor of dihydromyricetin based on Nafion/SWCNT-modified glassy carbon electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry* 16, 1473 – 1480 (2012).
- [31] Zhang Y., Chen H., Gao X., Chen Z., Lin X.: A novel immunosensor based on a alternate strategy of electrodeposition and self-assembly. *Biosensors and Bioelectronics* 35, 277 – 283 (2012).
- [32] Chauhan N., Singh A., Narang J., Dahiya S., Pundir C. S.: Development of amperometric lysine biosensors based on Au nanoparticles/multiwalled carbon nanotubes/polymers modified Au electrodes. *Analyst* 137, 5113 – 5122 (2012).
- [33] Chauhan N., Narang J., Pundir C. S.: Fabrication of multiwalled carbon nanotubes/polyaniline modified Au electrode for ascorbic acid determination. *Analyst* 136, 1938 – 1945 (2011).
- [34] Unnikrishnan B., Hsu P. - C., Chen S. - M.: A multipurpose voltammetric sensor for the determination of chlorpromazine in presence of acetaminophen, uric acid, dopamine and ascorbic acid. *International Journal of Electrochemical Science* 7, 11414 – 11425 (2012).
- [35] Zhang B., Huang D., Xu X., Alemu G., Zhang Y., Zhan F., Shen Y., Wang M.: Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid with helical carbon nanotubes. *Electrochimica Acta* 91, 261 – 266 (2013).

- [36] Yu A., Wang Q., Yong J., Mahon P. J., Malherbe F., Wang F., Zhang H., Wang J.: Silver nanoparticle-carbon nanotube hybrid films: Preparation and electrochemical sensing. *Electrochimica Acta* 74, 111 – 116 (2012).
- [37] Jemelková Z., Zima J., Barek J.: Electroanalysis of some catecholamines at a single-wall nanotubes modified carbon paste electrode. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 75 (12), 1217 – 1228 (2010).
- [38] Jahandari S., Taher M. A., Fazelirad H., Sheikhshoai I.: Anodic stripping voltammetry of silver(I) using carbon paste electrode modified with multi-walled carbon nanotubes. *Microchimica Acta* 180, 347 – 354 (2013).
- [39] Chicharro M., Sánchez A., Bermejo E., Zapardiel A., Rubianes M. D., Rivas G. A.: Carbon nanotubes paste electrodes as new detector for capillary electrophoresis. *Analytica Chimica Acta* 543, 84 – 91 (2005).
- [40] Li Z., Junfeng S.: Voltammetric behavior of urapidil and its determination at multi-wall carbon nanotube paste electrode. *Talanta* 73, 943 – 947 (2007).
- [41] Rivas G. A., Rubianes M. D., Pedano M. L., Ferreyra N. F., Luque G. L., Rodríguez M. C., Miscoria S. A.: Carbon nanotubes paste electrodes. A new alternative for the development of electrochemical sensors. *Electroanalysis* 19 (7 – 8), 823 – 831 (2007).
- [42] Królicka A., Pauliukaitė R., Švancara I., Metelka R., Bobrowski A., Norkus E., Kalcher K., Vytřas K.: Bismuth-film-plated carbon paste electrodes. *Electrochemistry Communications* 4, 193 – 196 (2002).
- [43] Raoof J. - B., Ojani R., Rashid-Nadimi S.: Preparation of polypyrrole/ferrocyanide films modified carbon paste electrode and its application on the electrocatalytic determination of ascorbic acid. *Electrochimica Acta* 49, 271 – 280 (2004).
- [44] Abbaspour A., Mehrgardi M. A.: Electrocatalytic oxidation of guanine and DNA on a carbon paste electrode modified by cobalt hexacyanoferrate films. *Analytical Chemistry* 76, 5690 – 5696 (2004).

- [45] Primo E. N., Gutierrez F. A., Luque G. L., Dalmasso P. R., Gasnier A., Jalit Y., Moreno M., Bracamonte M. V., Eguílaz Rubio M., Pedano M. L., Rodríguez M. C., Ferreyra N. F., Rubianes M. D., Bollo S., Rivas G. A.: Comparative study of the electrochemical behavior and analytical application of (bio)sensing platforms based on the use of multi-walled carbon nanotubes dispersed in different polymers. *Analytica Chimica Acta* 805, 19 – 35 (2013).
- [46] Qu F., Yang M., Jiang J., Shen G., Yu R.: Amperometric biosensor for choline based on layer-by-layer assembled functionalized carbon nanotube and polyaniline multilayer film. *Analytical Biochemistry* 344, 108 – 114 (2005).
- [47] Branzoi F., Branzoi V., Musina A.: Fabrication and characterisation of conducting composite films based on conducting polymers and functionalised carbon nanotubes. *Surface and Interface Analysis* 44, 1076 – 1080 (2012).
- [48] Henstridge M. C., Dickinson E. J. F., Aslanoglu M., Batchelor-McAuley C., Compton R. G.: Voltammetric selectivity conferred by the modification of electrodes using conductive porous layers or films: The oxidation of dopamine on glassy carbon electrodes modified with multiwalled carbon nanotubes. *Sensors and Actuators B: Chemical* 145, 417 – 427 (2010).
- [49] Motoc S., Remes A., Pop A., Manea F., Schoonman J.: Electrochemical detection and degradation of ibuprofen from water on multi-walled carbon nanotubes-epoxy composite electrode. *Journal of Environmental Sciences* 25 (4), 838 – 847 (2013).
- [50] Gonzáles-Segura K., Cañete-Rosales P., del Rio R., Yáñez C., Ferreyra N. F., Rivas G. A., Bollo S.: Effect of the dispersing agent on the electrochemical response of glassy carbon electrodes modified with dispersions of carbon nanotubes. *Electroanalysis* 24 (12), 2317 – 2323 (2012).
- [51] Tunckol M., Fantini S., Malbosc F., Durand J., Serp P.: Effect of the synthetic strategy on the non-covalent functionalization of multi-walled carbon nanotubes with polymerized ionic liquids. *Carbon* 57, 209 – 216 (2013).

- [52] Olivé-Monllau R., Esplandiú M. J., Bartrolí J., Baeza M., Céspedes F.: Strategies for the optimization of carbon nanotube/polymer ratio in composite materials: Applications as voltammetric sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical* 146, 353 – 360 (2010).
- [53] Wang J., Musameh M., Lin Y.: Solubilization of carbon nanotubes by nafion toward the preparation of amperometric biosensors. *Journal of the American Chemical Society* 125, 2408 – 2409 (2003).
- [54] Bollo S., Ferreyra N. F., Rivas G. A.: Electrooxidation of DNA at glassy carbon electrodes modified with multiwall carbon nanotubes dispersed in chitosan. *Electroanalysis* 19 (7) – 8, 833 – 840 (2007).
- [55] Cheng Q., Debnath S., O'Neill L., Hedderman T. G., Gregan E., Byrne H. J.: Systematic study of the dispersion of SWCNTs in organic solvents. *Journal of Physical Chemistry C* 114, 4857 – 4863 (2010).
- [56] IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to humans Vol. 40. International Agency for Research of Cancer, www.iarc.fr (staženo 1. 6. 2014).
- [57] Williams G. M., Iatropoulos M. J., Whysner J.: Safety assesment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and Chemical Toxicology* 37, 1027 – 1038 (1999).
- [58] Nařízení komise (EU) č. 1130/2011, *Úřední věstník Evropské unie* (12. 11. 2011), <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32011R1130&rid=6> (staženo 10. 8. 2015).
- [59] Alvarez-Rivera G., Vila M., Lores M., Garcia-Jares C., Llompart M.: Development of a multi-preservative method based on solid-phase microextraction-gas chromatography-tandem mass spektrometry for cosmetic analysis. *Journal of Chromatography A* 1339, 13 – 25 (2014).
- [60] Ding M., Zou J.: Rapid micropreparation procedure for the gas chromatographic-mass spectrometric determination of BHT, BHA and TBHQ in edible oils. *Food Chemistry* 131, 1051 – 1055 (2012).

- [61] Yang M.-H., Lin H.-J, Choong Y.-M.: A rapid chromatographic methods for direct determination of BHA, BHT and TBHQ in edible oils and fats. *Food Research International* 35, 627 – 633 (2002).
- [62] Liu C., Wang J., Yang Y.: High-performance liquid chromatography determination of antioxidants in cosmetics after cloud point extraction using dodecylpolyoxyethylene ether. *Analytical Methods* 6, 6038 – 6043 (2014).
- [63] Hwang H.-S., Winkler-Moser J. K.: Food additives reducing volatility of antioxidants at frying temperature. *Journal of the American Oil Chemists Society* 91, 1745 – 1761 (2014).
- [64] Ruiz M. A., García-Moreno E., Barbas C., Pingarrón J. M.: Determination of phenolic antioxidants by HPLC with amperometric detection at a nickel phthalocyanine polymer modified electrode. *Electroanalysis* 11 (7), 470 – 474 (1999).
- [65] Mirzaie A., Jamshidi A., Husain S. W.: Quantitative ion-exchange TLC of *p*-hydroxybenzoic acid in the presence of preservatives. *Journal of Planar Chromatography* 20 (4), 303 – 306 (2007).
- [66] Komaitis M. E.: Thin layer chromatographic detection of some common antioxidants. *Grasas y Aceites* 42 (6), 420 – 421 (1991).
- [67] Remenar J. F., Wenslow R., Ostovic D., Peresykin A.: Solid-state nuclear magnetic resonance determination of the physical form of BHA common pharmaceutical excipients. *Pharmaceutical Research* 21 (1), 185 – 188 (2004).
- [68] Bhardwaj V., Sharma P., Chauhan M. S., Chauhan S.: Thermodynamic, FTIR, H-NMR, and acoustic studies of butylated hydroxyanisole and sodium dodecyl sulfate in ethanol, water rich and ethanol rich solutions. *Journal of Molecular Liquids* 180, 192 – 199 (2013).
- [69] Rasheed Z., Vikraman A. E.: Carbon-nanotube-based sensor for the determination of butylated hydroxynisole in food samples. *Food Analytical Methods* 8, 213 – 221 (2015).

- [70] Roushani M., Sarabaegi M.: Electrochemical detection of butylated hydroxyanisole based on glassy carbon electrode modified by iridium oxide nanoparticles. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 717 – 718, 147 – 152 (2014).
- [71] Lin X., Ni Y., Kokot S.: Glassy carbon electrodes modified with gold nanoparticles for the simultaneous determination of three food antioxidants. *Analytica Chimica Acta* 765, 54 – 62 (2013).
- [72] Capitán-Vallvey L. F., Valencia M. C., Nicolás E. A.: Simple resolution of butylated hydroxyanisole and *n*-propyl gallate in fatty foods and cosmetics samples by flow-injection solid-phase spectrophotometry. *Journal of Food Science* 68 (5), 1595 – 1599 (2003).
- [73] Capitán-Vallvey L. F., Valencia M. C., Nicolás E. A.: Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and *n*-propyl gallate in foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry. *Analyst* 126, 897 – 902 (2001).
- [74] Joseph P. D., Lenkinski R. E.: Reaction of Gibbs reagent (2,6-dichlorobenziquinone 4-chloroimine) with the antioxidant BHA (3-*tert.*-butyl 4-hydroxyanisole): isolation and identification of the major product. *Journal of Chromatography* 294, 375 – 379 (1984).
- [75] Ito Y.: Extraction and colorimetric determination method of butylhydroxyanisole in food used by binding reaction with 2,6-dichloroquinone chloroimide. *Journal of the Japanese Society For Food Science and Technology*, 134 – 139 (1986).
- [76] Sato Y., Kawamura T.: Studies on the antioxidants in the foods (II): on the colorimetric determination of dibutylhydroxytoluene and butylhydroxyanisole. *Food Hygiene and Safety Science*, 53 – 56 (1972).
- [77] Scientific opinion on the re-evaluation of butylated hydroxyanisole – BHA (E 320) as a food additive. *EFSA Journal* 9 (10), 2392 (2011).
- [78] CZ Pat 2002-3939. Švancara I., Metelka R., Vytřas K.: Pouzdro pro uhlíkovou pastu k elektrochemickým měřením. 2. 12. 2012.

- [79] Ziyatdinova G., Aytuganova I., Nizamova A., Morozov M., Budnikov H.: Cyclic voltammetry of natural flavonoids on MWNT-modified electrode and their determination in pharmaceuticals. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* 76 (12), 1619 – 1631 (2011).
- [80] Ziyatdinova G., Gainetdinova A., Morozov M., Budnikov H., Grazhulene S., Red'kin A.: Voltammetric detection of sythetic water-soluble phenolic antioxidants using carbon based electrodes. *Journal of Solid State Electrochemistry* 16, 127 – 134 (2012).