

VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ ANTHRACENU POMOCÍ ELEKTRODY ZE SKELNÉHO UHLÍKU MODIFIKOVANÉ DEOXYRIBONUKLEOVOU KYSELINOU

MARTA BLÁŠKOVÁ*, ANDREA HÁJKOVÁ
a VLASTIMIL VYSKOČIL

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Univerzitní výzkumné centrum „Supramolekulární chemie“
UNCE, Katedra analytické chemie, UNESCO laboratoř elektrochemie životního prostředí, Hlavova 2030/8, 128 43 Praha 2
vlastimil.vyskocil@natur.cuni.cz

Došlo 28.12.14, přijato 3.2.15.

Klíčová slova: polycyklické aromatické uhlovodíky, anthracen, DNA biosenzor, diferenční pulzní voltametrie, kontaminace pedosféry, modelové vzorky šterku a písku

Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH) jsou organické sloučeniny charakteristické přítomností nejméně dvou kondenzovaných benzenových jader ve své chemické struktuře. Na počtu benzenových jader závisí jejich fyzikální a chemické vlastnosti, s rostoucí molekulovou hmotností klesá např. rozpustnost PAH ve vodě a roste jejich lipofilita, což má za následek snazší přenos těchto látek v živých organismech. Řada PAH je podezřelých z karcinogenity, genotoxicity a teratogenity^{1–4}. V současné době jsou PAH a jejich deriváty běžnou součástí ovzduší, následně pak i pedosféry a hydrosféry. Jsou produkovány převážně při spalování organických materiálů. K expozici člověka může dojít jak vdechováním, požitím, tak i lokální absorpcí. V lidském těle jsou potom PAH metabolizovány a vytvořené metabolity mohou interagovat s biomolekulami, např. s deoxyribonukleovou kyselinou (DNA). Tímto způsobem mohou v lidském těle vyvolat rakovinné bujení^{1–4}.

V dnešní době je snaha o regulaci množství těchto karcinogenů v životním prostředí a v potravinách. Nejpoužívanější techniky pro identifikaci a stanovení PAH jsou plynová chromatografie s hmotnostní detekcí^{2,5–7} a vysoce účinná kapalinová chromatografie s UV spektrofotometrickou⁸, fluorescenční^{9,10}, hmotnostní^{11,12} nebo ampérome-

trickou^{13,14} detekcí. Pro stanovení PAH byly rovněž použity techniky voltametrické^{15–18}, které jsou ve srovnání s výše uvedenými technikami separačními experimentálně i instrumentálně jednodušší a finančně méně náročné¹⁹.

Tato práce se zabývá vývojem citlivé voltametrické metody pro stanovení vybraného zástupce PAH – anthracenu – a její aplikaci na modelové vzorky šterku a písku¹⁷. Byl v ní použit nový typ elektrochemického biosenzoru (DNA/GCE) – elektroda ze skelného uhlíku (GCE) modifikovaná vrstvou dvouvláknové DNA izolované z lososích spermií^{20–22}. Zvýšení citlivosti stanovení oproti nemodifikované GCE bylo dosaženo samovolnou akumulací analytu do dvoušroubovice DNA (tzv. interkalací), která má za následek jeho prekoncentraci na povrchu biosenzoru²³. Působení anthracenu a dalších strukturně podobných látek na poškození DNA bylo studováno v práci Bagniho a spol.²⁴, ze které vyplývá, že anthracen patří mezi interkalátory, zatímco aromáty s menším počtem kruhů (např. benzen) interagují s DNA pouze slabě.

Experimentální část

Reagencie

Zásobní roztok anthracenu (99 %, Sigma-Aldrich, USA) o koncentraci 1 mmol l⁻¹ byl připraven v ethanolu (96 %, čistota p.a., Lach-Ner, ČR) a uchováván ve skleněné nádobě v temnu za laboratorní teploty.

Brittonovy-Robinsonovy (BR) pufrы byly připraveny smícháním roztoku kyseliny trihydrogenborité (99,5 %), kyseliny trihydrogenfosforečné (85 %) a octové kyseliny (80 %) (všechny o koncentraci 0,04 mol l⁻¹) s roztokem 0,2 mol l⁻¹ hydroxidu sodného (> 98 %) (všechny tyto chemikálie byly čistoty p.a., Lach-Ner, ČR). Fosforečnanový pufr (PB) o koncentraci 0,1 mol l⁻¹ a pH 7,0 byl připraven jako roztok dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu sodného (98,5 %, čistota p.a., Lach-Ner, ČR) a monohydrátu dihydrogenfosforečnanu sodného (> 98 %, Sigma-Aldrich, USA). Pro přípravu pufrů byla použita deionizovaná voda (Milli-Q Plus, Millipore, USA).

Zásobní roztok DNA o koncentraci 1 mg ml⁻¹ byl připraven rozpuštěním nízkomolekulární DNA z lososích spermií (Sigma-Aldrich, USA) v PB a skladován v mrazicím boxu při teplotě –4 °C.

Aparatura

Pro voltametrická měření i pro imobilizaci DNA na povrch pracovní elektrody byla použita sestava μAutolab III/FRA2 (Eco Chemie, Nizozemsko) s programem GPES (General Purpose Electrochemical System), verze 4.9. Přístroj byl řízen osobním počítačem

* Marta Blašková tuto práci úspěšně prezentovala na soutěži O cenu firmy Merck 2014 za nejlepší studentskou vědeckou práci v oboru analytická chemie.

s operačním systémem Microsoft Windows XP Professional. Měření probíhala v tříelektrodovém zapojení složeném z argentchloridové referenční elektrody typu RAE 113 ($3 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$), platinové pomocné elektrody typu PPE (obě Monokrystaly, ČR) a pracovní GCE typu 6.1204.300, s průměrem uhlíkového disku 3,0 mm (Metrohm, Švýcarsko), která rovněž sloužila jako substrát pro přípravu DNA/GCE.

Při diferenční pulzní voltametii (DPV) byla použita polarizační rychlost 20 mV s^{-1} , výška pulzu 50 mV, šířka pulzu 100 ms, perioda pulzu 150 ms a potenciálový krok 3 mV. Přesná hodnota pH byla měřena digitálním pH-metrem Jenway 4330 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou (typ 924 005).

Pracovní postupy

Roztoky pro měření pH závislosti a opakovatelnosti stanovení anthracenu ($c = 0,1 \text{ mmol l}^{-1}$) byly připravovány v 10 ml odměrných bačkách. Byl odměřen 1,0 ml ethanolického zásobního roztoku anthracenu o koncentraci 1 mmol l^{-1} , byly přidány 4,0 ml ethanolu a baňka byla doplněna po rysku BR pufrům o požadovaném pH. Roztoky pro měření koncentračních závislostí byly připravovány obdobným způsobem (5,0 ml ethanolického roztoku s postupně rostoucí koncentrací anthracenu bylo doplňováno BR pufrům o optimální hodnotě pH na 10,0 ml). Před měřením každého nového vzorku byl povrch GCE nejprve aktivován v míchaném PB vložením potenciálu 1,8 V po dobu 60 s.

Při přípravě DNA/GCE (cit.²⁰) byla DNA na povrch pracovní elektrody akumulována ze zásobního roztoku ($\gamma = 1 \text{ mg ml}^{-1}$) v PB. Roztok byl během akumulace míchán a na elektrodu byl po dobu 3 min vkládán akumulací potenciál 0,5 V. Aby při stanovení anthracenu nedocházelo k interferencím mezi jeho voltametrickým signálem a signály guanosinových a adenosinových zbytků přítomných ve struktuře imobilizované DNA, byly před použitím biosenzoru zaznamenány v PB dva po sobě následující DP voltamogramy v rozmezí potenciálů 0 až 1,5 V, čímž byly tyto zbytky purinových bází zcela zoxidovány. Poté následovala inkubace biosenzoru v míchaném vzorku analytu (akumulace analytu) po určitou dobu. Bezprostředně po inkubaci bylo provedeno ve stejném roztoku i voltametrické stanovení anthracenu. Vlastní biosenzor bylo takto možné použít pouze pro jeden voltametrický záznam. Po použití biosenzoru byla vrstva DNA odstraňována mechanicky, otřením jeho povrchu o plstěnou podložku potřenou suspenzí aluminu (velikost částic 1,1 μm) ve vodě. Příprava dalšího nového biosenzoru pak započala s takto předupravenou GCE. Celková doba jedné analýzy, včetně přípravy biosenzoru a akumulace analytu, tak činila přibližně 12 min.

Modelové vzorky šterku a písku byly připravovány následovně¹⁷: 3 g přírodního šterku (o průměrné velikosti zrn 3 mm) nebo písku (o velikosti zrn menší než 1 mm) byly převedeny do extrakční nádoby. Pomocí automatické pipety bylo na povrch substrátu nanášeno 30 μl zásob-

ního roztoku anthracenu ($c = 1 \text{ mmol l}^{-1}$), celkově tedy 10 mmol g^{-1} . Po odpaření ethanolu byly do extrakční nádoby přidány 3 ml hexanu (čistota p.a., Penta, ČR) jako extrakčního činidla. Vzorek byl důkladně protřepán a do voltametrické nádoby byl automatickou pipetou odebrán 1,0 ml extraktu. Po odpaření extraktu byl odparek rozpuštěn v 10,0 ml základního elektrolytu a ve vzniklém roztoku byla provedena inkubace biosenzoru a následné voltametrické stanovení anthracenu. Výťažnost extrakce byla počítána jako podíl signálu analytu ve vzorku po extrakci a signálu standardu o koncentraci $1 \mu\text{mol l}^{-1}$.

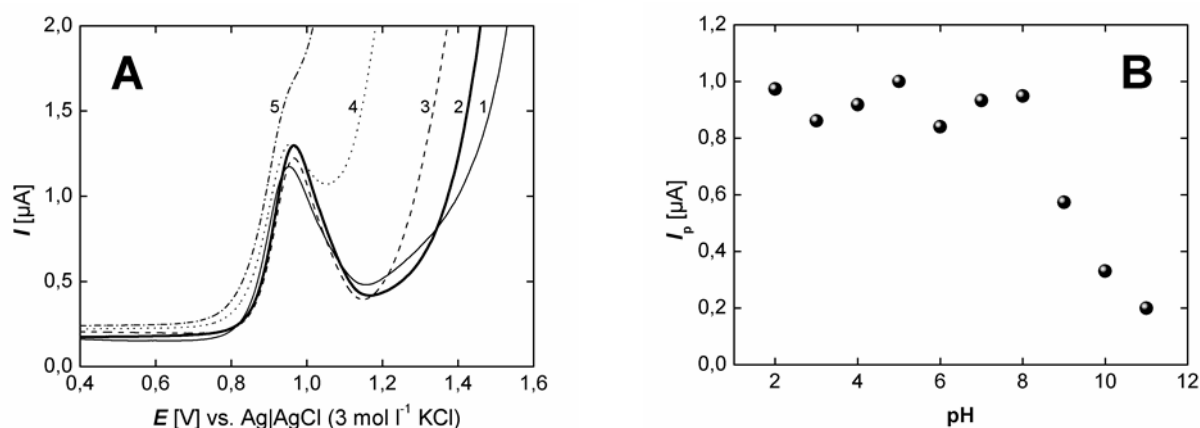
Všechna měření byla prováděna za laboratorní teploty a opakována nejméně pětkrát (v případě měření na DNA/GCE vždy na nově připraveném biosenzoru). Výška voltametrických pík anthracenu (I_p) byla vyhodnocována od základní linie vytvořené polynommickou extrapolací proudu pozadí před a za měřeným píkem (tento způsob vyhodnocování umožňuje použitý program GPES). Mez stanovitelnosti (L_Q) byla počítána jako koncentrace studované látky odpovídající desetinásobku směrodatné odchylky (10σ ; pro počet měření $n = 10$) stanovení sledované látky o koncentraci odpovídající nejnižšímu bodu příslušné kalibrační přímky²⁵.

Výsledky a diskuse

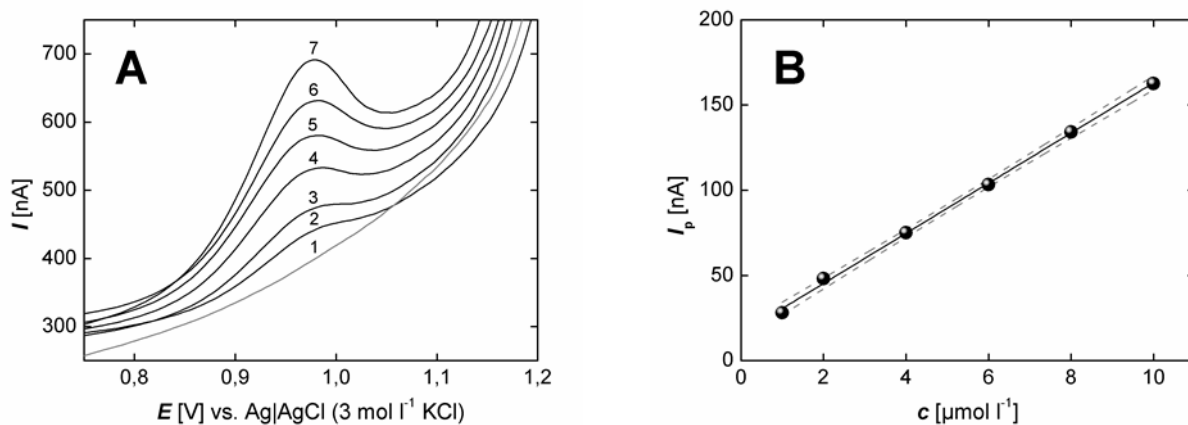
Elektrochemické chování a voltametrické stanovení anthracenu na GCE

Nejprve byl sledován vliv pH na elektrochemické chování anthracenu na GCE v prostředí ethanol – BR pufr (1:1). Směsné alkoholicko-vodné prostředí bylo použito kvůli omezené rozpustnosti anthracenu ve vodě a byly použity pufrы o pH 2,0 až 11,0. Koncentrace anthracenu v měřených roztocích byla vždy $0,1 \text{ mmol l}^{-1}$. V celém měřeném rozsahu pH poskytoval anthracen jeden voltametrický pík (pravděpodobně odpovídající jednoelektronové oxidaci anthracenu na odpovídající radikál kation)²⁶, jehož potenciál se s rostoucím pH významně neměnil a pohyboval se kolem $0,955 \pm 0,008 \text{ V}$ (obr. 1A). Elektrochemická oxidace anthracenu je radikálový proces nezávislý na pH probíhající bez účasti vodíkových kationů²⁷. S rostoucí hodnotou pH však pík anthracenu splýval s proudem rozkladu základního elektrolytu, takže se jeho výška v zásaditých prostředích značně snižovala (obr. 1B). Jako optimální prostředí, ve kterém anthracen poskytoval nejvyšší a nejlépe vyhodnotitelný DPV pík, bylo zvoleno prostředí ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1) (obr. 1).

Dále byla sledována opakovatelnost stanovení anthracenu ($c = 0,1 \text{ mmol l}^{-1}$) na GCE po dvacet po sobě následujících měření v optimálním prostředí. Získaná relativní směrodatná odchylka činila 1,8 %. Kalibrační závislost anthracenu byla proměřena v koncentračním rozmezí 1 až $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ (obr. 2). Její parametry jsou shrnuty v tab. I. Hodnota $L_Q \approx 2,2 \mu\text{mol l}^{-1}$ je srovnatelná s hodnotou publikovanou pro stanovení anthracenu na GCE pomocí square-wave voltametrie ($L_Q \approx 4,0 \mu\text{mol l}^{-1}$)¹⁷.



Obr. 1. (A) DP voltamogramy anthracenu ($c = 0,1 \text{ mmol l}^{-1}$) změřené na GCE v prostředí ethanol – BR pufr (1:1); hodnoty pH použitého BR pufru: 3,0 (1), 5,0 (2), 7,0 (3), 9,0 (4) a 11,0 (5); voltamogram reprezentující optimální prostředí pro DPV stanovení anthracenu je znázorněn tučnou plnou čarou. (B) Závislost proudu DPV píku anthracenu (I_p) ($c = 0,1 \text{ mmol l}^{-1}$) na pH použitého BR pufru změřená na GCE



Obr. 2. (A) DP voltamogramy anthracenu změřené na GCE v prostředí ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1); koncentrace anthracenu: 0 (1), 1 (2), 2 (3), 4 (4), 6 (5), 8 (6) a 10 (7) $\mu\text{mol l}^{-1}$. (B) Odpovídající kalibrační závislost; konfidenční pásy jsou sestrojeny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n = 5$)

Tabulka I

Parametry kalibračních přímek pro DPV stanovení anthracenu v prostředí ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1); směrodatné odchylky hodnot směrnic a úseků jsou vypočteny pro $n = 5$

Elektroda	Koncentrační rozmezí [$\mu\text{mol l}^{-1}$]	Směrnice [mA l mol^{-1}]	Úsek [nA]	r^a	L_Q^b [$\mu\text{mol l}^{-1}$]
GCE	1–10	$14,71 \pm 0,26$	$15,9 \pm 1,6$	0,9992	2,2
DNA/GCE	1–10	$55,73 \pm 0,99$	$125,7 \pm 6,0$	0,9992	–
	0,1–1	$187,4 \pm 7,1$	$-1,0 \pm 4,4^c$	0,9963	0,15

^a Korelační koeficient, ^b mez stanovitelnosti (10σ ; $\alpha = 0,05$), ^c úsek není statisticky významně odlišný od nuly na hladině významnosti $\alpha = 0,05$

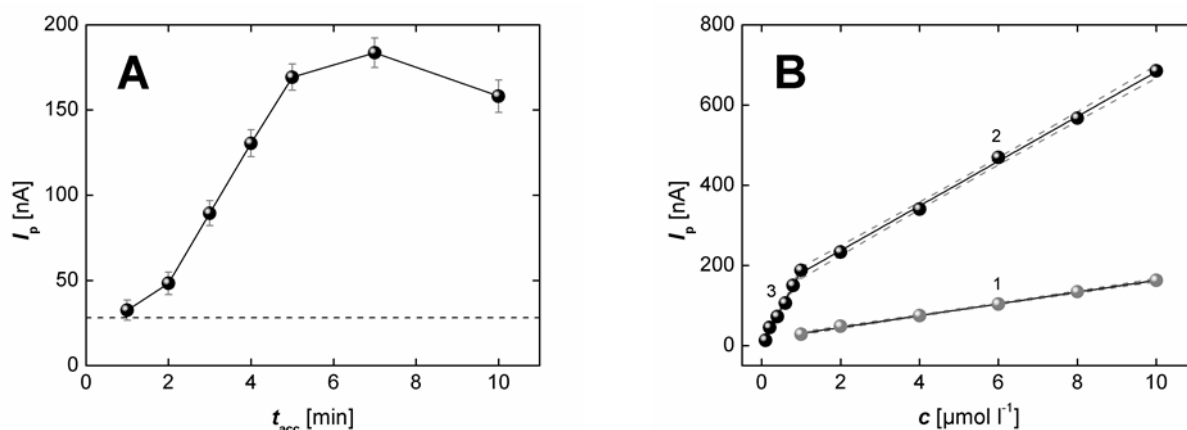
Voltametrické stanovení anthracenu na DNA/GCE

Zvýšení citlivosti výše popsaného stanovení anthracenu na GCE bylo umožněno prostřednictvím prekoncepčního kroku, který byl založen na akumulaci analytu v důsledku jeho samovolné interkalace do dvoušroubovice povrchově imobilizované DNA. Pro akumulaci anthracenu i jeho voltametrické stanovení na DNA/GCE bylo použito stejné prostředí jako pro stanovení na GCE, tedy ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1). Zvýšení proudu DPV píku anthracenu (I_p) je ukázáno na obr. 3A, ze kterého je patrné, že s rostoucí dobou akumulace analytu (t_{acc}) o koncentraci $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ dochází až k sedminásobnému nárůstu I_p na DNA/GCE oproti nemodifikované GCE, na které nebylo zvýšení I_p s rostoucí t_{acc} pozorováno. Doba akumulace analytu 5 min byla zvolena jako optimální, při jejím použití dochází téměř k nasycení dostupných interakčních míst ve struktuře DNA a další nárůst I_p prodloužením doby akumulace je již velmi malý a nevyváží prodloužení celé procedury. Za těchto podmínek byla opakovatelnost stanovení anthracenu ($c = 1 \mu\text{mol l}^{-1}$) na GCE/DNA 6,8 % (pro dvacet sériových měření, přičemž každé měření bylo provedeno vždy na nově připraveném biosenzoru).

Kalibrační závislosti anthracenu na DNA/GCE byly

proměřeny v rozsahu koncentrací $0,1$ až $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ a 1 až $10 \mu\text{mol l}^{-1}$. Každá koncentrace byla měřena pětikrát, vždy na nově připraveném biosenzoru po jeho 5 min inkubaci ve vzorku anthracenu. Získané kalibrační závislosti jsou znázorněny na obr. 3B, z něhož je zřejmé, že celková kalibrační závislost není přes dva měřené koncentrační řady lineární, nicméně v rámci jednotlivých koncentračních řádů je možné získané body proložit přímkou s vysokým korelačním koeficientem. Toto chování, které statisticky významně nekoreluje ($r = 0,9875$) s klasickým adsorpčním modelem reprezentovaným Langmuirovou adsorpční izotermou²⁸, je patrně způsobeno různým mechanismem obsazování interakčních míst ve struktuře DNA v závislosti na rostoucí koncentraci analytu. Parametry DPV stanovení anthracenu na DNA/GCE jsou shrnuty v tab. I. Díky modifikaci povrchu GCE vrstvou DNA se podařilo nejen významně zvýšit citlivost stanovení analytu, ale také snížit hodnotu L_Q o jeden koncentrační řád.

Využitelnost nově vyvinuté metodiky voltametrického stanovení anthracenu na DNA/GCE byla testována na modelových vzorcích přírodního šterku a písku. Při práci s modelovými vzorky se vycházelo z práce¹⁷. Zjišťována byla výtěžnost kapalinové extrakce anthracenu, a tedy i celková správnost stanovení. Jako extrakční činidlo byl



Obr. 3. (A) Závislost proudu DPV píku anthracenu (I_p) ($c = 1 \mu\text{mol l}^{-1}$) na době akumulace analytu do dvoušroubovice DNA (t_{acc}) změřená na DNA/GCE v prostředí ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1); hladina hodnoty I_p změřené za stejných podmínek na nemodifikované GCE bez akumulace analytu je na obrázku zobrazena čárkovanou čarou; chybové úsečky jsou sestaveny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n = 5$). (B) Srovnání kalibračních závislostí změřených pro anthracen v prostředí ethanol – BR pufr o pH 5,0 (1:1) na GCE v koncentračním rozmezí 1 – $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ (1) a na DNA/GCE ($t_{acc} = 5$ min) v koncentračních rozmezích 1 – $10 \mu\text{mol l}^{-1}$ (2) a $0,1$ – $1 \mu\text{mol l}^{-1}$ (3); konfidenční pásy jsou sestaveny na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ ($n = 5$)

Tabulka II

Výsledky voltametrického stanovení anthracenu v modelových vzorcích přírodního šterku a písku pomocí DNA/GCE; směrodatné odchylky hodnot výtěžnosti extrakce (správnosti stanovení) jsou vypočteny pro $n = 5$

Matrice	Koncentrace přidaná / nalezená [nmol g^{-1}]	Výtěžnost extrakce [%]
Šterk	10,0 / 9,8	$98,2 \pm 2,8$
Pisek	10,0 / 9,6	$96,1 \pm 4,2$

použit hexan. Detailní popis práce s modelovými vzorky je popsán v kapitole „Pracovní postupy“. V tab. II jsou shrnuty výsledky extrakce, které dokazují praktickou využitelnost vyvinuté metody pro stanovení anthracenu v jednoduchých pevných environmentálních maticích.

Závěr

V této práci byl představen nový přístup umožňující citlivé voltametrické stanovení prioritního environmentálního polutantu anthracenu. Při vývoji analytické metody byl použit nový typ jednoduchého elektrochemického biosenzoru (elektroda ze skelného uhlíku (GCE) modifikovaná vrstvou dvouvláknové deoxyribonukleové kyseliny (DNA) izolované z lososích spermií) a prekoncentrace analytu na povrchu biosenzoru bylo docíleno jeho samovolnou akumulací do dvoušroubovice DNA (tzv. interkalací). Jako optimální prostředí pro stanovení anthracenu diferenční pulzní voltametrií (DPV) byla zvolena směs ethanolu a 0,04 mol l⁻¹ Brittonova-Robinsonova (BR) pufru o pH 5,0 v objemovém poměru 1:1. Na nemodifikované GCE bylo dosaženo meze stanovitelnosti (L_Q) anthracenu 2,2 μmol l⁻¹ (proměřováno koncentrační rozmezí 1 až 10 μmol l⁻¹), zatímco na GCE modifikované vrstvou DNA (DNA/GCE) byla při použité době akumulace analytu 5 min dosažena $L_Q \approx 0,15 \mu\text{mol l}^{-1}$ (proměřováno koncentrační rozmezí 0,1 až 10 μmol l⁻¹). Nově vyvinutá metoda byla také úspěšně aplikována při stanovení anthracenu v modelových vzorcích přírodního štěrku a písku. Správnost stanovení anthracenu činila 98 % pro vzorky přírodního štěrku a 96 % pro vzorky přírodního písku.

Konvenční i chemicky modifikované elektrody byly pro stanovení anthracenu použity již dříve. Za zmínku stojí např. využití square-wave voltametrie na GCE¹⁷ ($L_Q \approx 4,0 \mu\text{mol l}^{-1}$; v naší práci bylo pomocí DPV na GCE dosaženo nižší L_Q , a to 2,2 μmol l⁻¹) a uhlíkové pastové elektrody¹⁷ ($L_Q \approx 0,67 \mu\text{mol l}^{-1}$), použití cyklické voltametrie na GCE modifikované kompozitem tvořeným nanočásticemi slitiny stříbra a zlata a elektrochemicky zoxidovaným polypyrrolem¹⁶ ($L_Q \approx 0,56 \mu\text{mol l}^{-1}$) či stanovení anthracenu pomocí square-wave voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě modifikované kalix[4]areny, při kterém byl stanovovaný analyt značen pomocí kvantových teček selenidu kademnatého¹⁸ ($L_Q \approx 0,38 \mu\text{mol l}^{-1}$). Námi představená metodika přináší ve srovnání s výše uvedenými metodami nejen nižší L_Q , ale vlastní chemická modifikace pracovní elektrody je jednodušší a rychlejší, což činí námi popsaný biosenzor vhodnější pro praktické využití při stanovení stopových množství nejen anthracenu, ale i dalších strukturně podobných organických sloučenin.

Tento výzkum byl prováděn v rámci Specifického výsokoškolského výzkumu (SVV). Za jeho finanční podporu bychom rádi poděkovali Grantové agentuře Univerzity Karlovy v Praze (M. Blašková a A. Hájková děkují projektu GAUK 430214/2014/B-CH/PrF) a Grantové agentuře

České republiky (V. Vyskočil děkuje projektu GP13-23337P).

LITERATURA

1. Mastrangelo G., Fadda E., Marzia V.: Environ. Health Perspect. 104, 1166 (1996).
2. Liu K., Han W., Pan W.-P., Riley J. T.: J. Hazard. Mater. B84, 175 (2001).
3. Mazur M., Blanchard G. J.: J. Phys. Chem. B 108, 1038 (2004).
4. Pratt M. M., John K., MacLean A. B., Afework S., Phillips D. H., Poirier M. C.: Int. J. Environ. Res. Publ. Health 8, 2675 (2011).
5. Zha Q., Qian N. X., Moldoveanu S. C.: J. Chromatogr. Sci. 40, 403 (2002).
6. King A. J., Readman J. W., Zhou J. L.: Anal. Chim. Acta 523, 259 (2004).
7. Poster D. L., Schantz M. M., Sander L. C., Wise S. A.: Anal. Bioanal. Chem. 386, 859 (2006).
8. Hatrík Š., Lehotay J.: Chem. Pap. 48, 334 (1994).
9. Kishikawa N., Wada M., Kuroda N., Akiyama S., Nakashima K.: J. Chromatogr. B 789, 257 (2003).
10. Węgrzyn E., Grześkiewicz S., Popławska M., Głód B. K.: Acta Chromatogr. 17, 233 (2006).
11. Airiau C. Y., Brereton R. G., Crosby J.: Rapid Commun. Mass Spectrom. 15, 135 (2001).
12. van Leeuwen S. M., Hayen H., Karst U.: Anal. Bioanal. Chem. 378, 917 (2004).
13. Bouvrette P., Hrapovic S., Male K. B., Luong J. H. T.: J. Chromatogr. B 1103, 248 (2006).
14. Zitka O., Babula P., Sochor J., Kummerova M., Krystofova O., Adam V., Havel L., Beklova M., Hubalek J., Kizek R.: Int. J. Electrochem. Sci. 7, 908 (2012).
15. Wei M.-Y., Wen S.-D., Yang X.-Q., Guo L.-H.: Biosens. Bioelectron. 24, 2909 (2009).
16. Mailu S. N., Waryo T., Ndagili P. M., Ngece F. R., Baleb A. A., Baker P. G., Iwuoha E. I.: Sensors 10, 9449 (2010).
17. German N., Armalis S.: Chemija 23, 86 (2012).
18. Sehatnia B., Sabzi R. E., Kheiri F., Nikoo A.: J. Appl. Electrochem. 44, 727 (2014).
19. Barek J., Pecková K., Vyskočil V.: Chem. Listy 103, 889 (2009).
20. Blašková M., Vyskočil V.: Chem. Listy 108, s211 (2014).
21. Stávková K., Vyskočil V.: Chem. Listy 108, s262 (2014).
22. Hájková A., Barek J., Vyskočil V.: Electroanalysis 27, 101 (2015).
23. Ferancová A., Bucková M., Korgová E., Korbut O., Gründler P., Wärnmark I., Štěpán R., Barek J., Zima J., Labuda J.: Bioelectrochemistry 67, 191 (2005).
24. Bagni G., Hernandez S., Mascini M., Sturchio E., Boccia P., Marconi S.: Sensors 5, 394 (2005).
25. Harvey D., v knize: Modern Analytical Chemistry, str. 96. McGraw-Hill, Toronto 2000.

26. Cordeiro D. S., Corio P.: J. Braz. Chem. Soc. 20, 80 (2009).
27. Hammerich O., Parker V. D.: J. Am. Chem. Soc. 96, 4289 (1974).
28. Wang J.: *Analytical Electrochemistry*, 3. vyd. J. Wiley, Hoboken 2006.

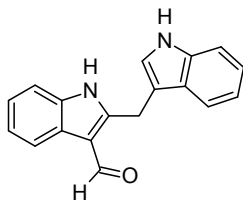
M. Blašková, A. Hájková, and V. Vyskočil (*Charles University in Prague, Faculty of Science, University Research Centre UNCE „Supramolecular Chemistry“, Department of Analytical Chemistry, UNESCO Laboratory of Environmental Electrochemistry, Prague*): **Voltammetric Determination of Anthracene Using a DNA-Modified Glassy Carbon Electrode**

Polycyclic aromatic hydrocarbons are an important class of compounds ubiquitous in both the living and working environment. Since they are proven carcinogens and/or mutagens, the development of highly sensitive analytical methods for their determination is among the most demanding tasks in environmental analysis nowadays. A simple electrochemical biosensor (DNA/GCE), based on

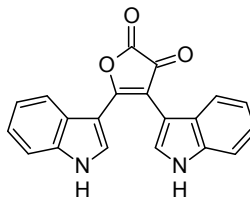
a glassy carbon electrode (GCE) and low molecular weight double-stranded DNA from salmon sperm immobilized onto the electrode surface, was used in this study for the development of a differential pulse voltammetric method for sensitive determination of a representative of polycyclic aromatic hydrocarbons – anthracene. The spontaneous accumulation of anthracene into the DNA structure (intercalation between the double-stranded DNA base pairs) was used to increase the sensitivity of the determination. The influence of pH on electrochemical behavior of anthracene was investigated at the bare GCE in buffered ethanolic–aqueous solutions. The optimal medium found was ethanol – 0.04 mol l⁻¹ Britton-Robinson buffer pH 5.0 (1:1, v/v), which was also used for the subsequent determination of anthracene at the DNA/GCE, with an analyte accumulation time of 5 min. The limit of quantification (L_Q) of anthracene at the bare GCE was 2.2 μmol l⁻¹, while the L_Q of 0.15 μmol l⁻¹ was reached at the DNA/GCE. Moreover, the applicability of the newly developed sensitive voltammetric method was successfully verified on model samples of gravel and sand, with the added/found recoveries of 98 % and 96 %, respectively.

ERRATA

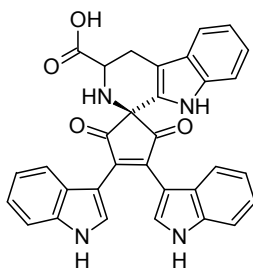
Chemické listy uveřejnily v Chem. Listy 109, 41 (2015) chybné strukturní vzorce v obr. 1. Redakce se omlouvá a tímto napravuje svou chybu.



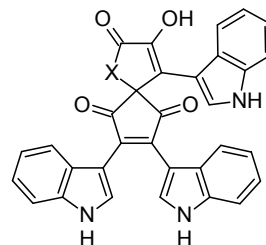
malassezín



pityrialaktón



pityriarubín A

pityriarubín B (X = HN)
pityriarubín C (X = O)

Obr. 1. Pigmenty produkované *M. furfur* (malassezín³¹, pityrialaktón²⁷, pityriarubíny²⁸) v prípade kultivácie na agare obsahujúcom tryptofán ako jediný zdroj dusíka