

전기 화학적으로 활성화된 glassy carbon 전극에서의 전압-전류 법을 이용한 Clenbuterol 측정

이소희 · 박원철*

서울대학교 융합과학기술대학원

(2014년 9월 3일 접수 : 2014년 9월 22일 수정 : 2014년 9월 29일 채택)

Voltammetric Determination of Clenbuterol on Electrochemically Activated Glassy Carbon Electrode

Sohee Lee and Yuanzhe Piao*

Graduate School of Convergence Science and Technology, Seoul National University,
Seoul 151-742, Republic of Korea

(Received September 3, 2014 : Revised September 22, 2014 : Accepted September 29, 2014)

초 록

전기 화학적으로 활성화된 glassy carbon 전극을 사용하여 Clenbuterol의 정량측정을 위해 신속하고 민감한 전압-전류 법을 개발하였다. 시차 펄스 전압-전류 법(Differential pulse voltammetry)을 이용하여, Clenbuterol에 대해 1×10^{-7} M에서 2×10^{-5} M의 범위에서 선형적인 반응을 보였으며 검출한계는 6×10^{-9} M (S/N=3)이었다. Clenbuterol의 농도가 1×10^{-6} M에서의 상대표준편차는 4.3%이었다. 다양한 양의 Clenbuterol이 포함된 소변 샘플로부터 96%의 회수율을 나타냈다. (N=3, 5×10^{-7} M에서 1×10^{-6} M의 Clenbuterol)

Abstract : A rapid and sensitive voltammetric method for the quantitative determination of Clenbuterol on electrochemically activated glassy carbon electrode has been developed. Using differential pulse voltammetry, the linear response range for the clenbuterol was between 1×10^{-7} and 2×10^{-5} M, and the detection limit was 6×10^{-9} M (S/N=3). The relative standard derivation was 4.3% for 1×10^{-6} M clenbuterol. Recoveries of 96% of the clenbuterol (n=3) were obtained from urine spiked with different amounts in the ranges 5×10^{-7} M and 1×10^{-6} M by this method.

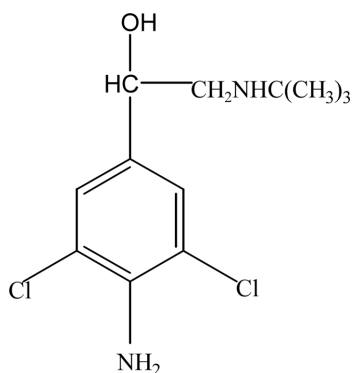
Keyword : Clenbuterol, Electrochemically activated glassy carbon electrode, Glassy carbon electrode, Cyclic voltammetry, Differential pulse voltammetry

1. 서 론

Clenbuterol (CLB)은 (scheme 1. 참조) β -agonist 군에 속하며 아드레날린 수용체로 작용하는 합성 약물로 일반적으로 호흡기 질환 치료 및 동물용 의약품으로 자궁수축 억제제로 사용된다. 이러한 CLB를 동

물 사료에 사용 하는 경우 성장 속도를 증가시키는 역할을 하며 특히 근육의 생성을 증가시키고 지방의 축적을 감소시킨다.^{1,2)} 이러한 이유로 가축을 사육할 때 CLB를 사용하는데, 이러한 사용은 동물 체내에 CLB를 축적시키게 되고, 이러한 가축을 소비하는 사람의 건강에 매우 심각한 위협을 줄 수 있다. 두통, 심장통증, 근육장애, 발열, 구토, 오한 등의 급성 독성을 일으킬 수 있으며, 이러한 부작용 때문에 CLB는

*E-mail: parkat9@snu.ac.kr



Scheme 1. Structure of Clenbuterol.

많은 국가에서 성장 촉진제로써 금지 되고 있다.²⁾

동물 사료내의 성장촉진제로서의 사용 이외에도, CLB는 운동선수 및 경주용 말에 대해 도핑물질로 지정되어있다. CLB를 사용함으로써 운동선수들의 체력과 정신력이 고도로 향상되고, 경주용 말의 능력이 더욱더 향상 되기도 한다. 이러한 이유로 CLB는 올림픽 위원회에 의해 금지물질로 지정 되어 있고, 공중 보건 및 안전의 이유로 CLB 잔류에 대한 국가별 통제 기준을 설립했다.

하지만 이러한 부작용에도 불구하고 가축을 사육하는 입장에서 경제적인 이유로 가축의 사료에 불법적인 사용이 여전히 지속되고 있다. 이러한 불법적인 CLB 사용을 모니터링 하기 위해 민감하고 선택적인 센서의 개발은 매우 중요하고 시급한 해결 과제이다.

현재 CLB를 정량을 결정하는 방법으로는 high-performance liquid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, flow-injection fluorimetry, capillary electrophoresis 그리고 voltammetry 등이 보고 되어왔다.⁴⁻¹³⁾ 또한 이러한 방법 이외에도 CLB의 정량분석을 위한 전기화학적 방법이 몇 가지 보고가 되었다.^{15,16)} 그러나 위에 언급된 방법들은 장비 자체가 상당히 고가이며, 전처리 시간이 상당히 길고, 비용이 많이 든다는 단점과 다소 복잡하고 긴 절차를 거쳐야 분석이 가능하여 지속적으로 사용하는 것에 문제가 있다. 또한 일부 기술은 민감도가 떨어지거나 선택적 분리가 어렵다는 문제점을 가지고 있다. 그래서 CLB의 분석에 있어서 저렴하고 다루기 편리하며 민감한 검출을 위한 검출법의 개발이 필요하다. 이러한 문제점을 해결할 수 있는 분석 방법으로 시차 펄스 전압-전류 법이 고안되었다. 이 방법은 다른 방법들에 비해 저가 이면서 부피가 작은 분석장비를 이용할 수 있고 분석시간이 짧으며 상대

적으로 분석하려는 대상물질의 농도가 낮아도 사용이 가능하다는 장점이 있다.

전기 화학적인 분석 방법으로 CLB를 정량 하기 위해서는 CLB의 전기 화학적 거동을 알아 보아야 한다. CLB의 전기화학적 거동은 일반적으로 높은 양의 전위에서 화학적인 부가반응이 발생하면서 낮은 양의 전위에서 준 가역반응(quasi-reversible couple)을 나타내는 반응물의 상승을 가져오는 비가역적 산화가 일어난다.^{14,15)}

Glassy carbon (GC) 전극은 다른 금이나 백금 전극에 비해 저렴하고 경제적이며, 넓은 전위 범위 때문에 전기 화학 연구 분야에서 매우 다양하게 사용되고 있는 전극이다. GC 전극의 전기 화학적 거동은 전극 표면의 조성 및 구조에 영향을 받는다. 간단한 전기화학적 활성화를 통해 GC 전극의 표면 개질이 가능하며 이러한 전 처리 방법을 통해 얻어진 GC 전극의 표면은 더 빠르고 나은 전기 화학적 거동을 보이게 된다.¹⁷⁻²⁰⁾ 전기 화학적으로 활성화된 GC 전극의 표면은 향상된 전자 전달 능력과 특정 물질의 흡착능력이 뛰어난 구조적 특성을 가지게 된다. 이렇게 얻어진 GC 전극을 사용하여 다양한 물질을 분석하는 데 응용이 가능하며,²¹⁾ 특히 유기분자의 전기화학적 분석 및 전기 분해 등에 사용된다.²²⁻²⁵⁾

본 연구에서는 전기화학적으로 활성화된 GC 전극을 이용하여 간단하며 매우 민감하고 저렴한 방법으로 빠르게 미량의 CLB를 정량 분석할 수 있는 전압-전류법을 이용하여 검출법을 도입하였다. CLB의 산화 후에 부가적 화학반응을 통해 준 가역적 반응을 일으키는 전압-전류법에 의한 흡착 효과는 검출 감도를 향상시켰다. CLB는 1×10^{-7} M에서 2×10^{-5} M의 농도 범위에서 선형 관계를 나타내었고 이때 검출한계는 6×10^{-9} M (S/N=3)이었다. 이러한 결과는 전기 화학적으로 활성화된 GC 전극이 명백하게 CLB의 검출 전류의 향상을 나타내고 있다는 것을 의미하며 우수한 촉매 활성을 나타내며 CLB 정량 검출에 감도를 향상시킨 것을 확인할 수 있었다.

2. 실험

2.1 시약

CLB는 Sigma-Aldrich로부터 구입하고 추가적인 정제 과정 없이 사용하였다. CLB의 원액(1×10^{-3} mol/L)을 증류수로 적절히 희석하여 각 농도의 표준용액을 만들어 실험에 사용하였다. 보관은 4°C, 그리고 어두운 곳에 보관하도록 한다. 본 연구의 사용된 모든 시약은 analytical-reagent grade로 사용하였고 Nano Pure System (Barnsted)에 탈 이온화된 증류수를 사용하였다.

2.2 기기 및 장치

모든 전기화학적 분석은 CH Instruments model 440 분석기를 사용하여 수행되었다. Bioanalytical Systems Inc. 의 3.0 mm의 직경을 가진 glassy carbon 전극을 작업전극으로, Pt wire와 Ag/AgCl 전극은 각각 상대전극과 기준전극으로 사용하였다. 모든 실험은 실온에서 수행되었다. 작업전극을 사용하기 전에 glassy carbon 전극을 0.3과 0.05 μm 의 알루미늄 산화물 파우더 (<micron, 99.7%, Aldrich)를 사용해 연마과정을 거친 후 증류수로 여러 번 세척하였으며, 이후에 ultrasonication bath에 2분간 넣어 세척하여 전극 표면을 깨끗이 하였다.

2.3 전기화학적 측정방법

2.3.1 전기 화학적으로 활성화된 glassy carbon 전극 제작

작업 전극으로 사용된 GC 전극의 전기화학적 전처리는 0.5 M H_2SO_4 , +2.0 V에서 2분간 그리고, -1.0 V에서 1분간 유지시키며 양극 산화를 통해 이루어진다. 전 처리가 끝나면, 준비된 전극은 -0.5 V ~ +0.8 V의 범위에서 2번, 0.1 V/s의 주사속도로 순환 전압-전류 곡선(Cyclic voltammogram)을 측정하고, 이 과정을 통해 활성화된 glassy carbon 전극을 얻는다.

2.3.2 활성화된 glassy carbon 전극을 이용한 CLB의 측정

활성화된 glassy carbon 전극을 분석하고자 하는 CLB가 포함된 pH=1인 전해액에 담지시킨다. 0 V에서 +1.35 V (vs. Ag/AgCl) 사이의 전위에서 10번의 순환 전압-전류 곡선을 얻는다. 이후 5초간 휴지시간을 주고 양극 시차 펄스 전압-전류 (Anodic Differential Pulse Voltammetry) 스캔을 +0.35 V에서 +0.7 V (vs. Ag/AgCl)사이에서 수행하고 피크전류를 측정한다. CLB 측정을 위한 시차펄스 전압-전류 분석에서 전위범위는 +0.35 V에서 +0.70 V (vs. Ag/AgCl), 주사속도는 20 mV/s, 펄스크기는 50 mV, 펄스 진폭은 50 mV, 펄스 간격은 200 ms로 하였다.

0.1 M의 HCl 용액에서 CLB의 산화반응 이후에 부가적인 화학반응에 의해 준 가역적 커플 반응이 일어나므로 그에 따른 산화 피크로부터 CLB가 정량될 수 있다. CLB를 함유하는 용액에서 전압-전류 측정 실험 후에, 작업 전극으로 사용된 활성화된 glassy carbon 전극을 0.1 M KOH 용액에 담가 두고 5분동안 교반한다. 이 과정을 통하여 CLB의 준 가역적 커플 반응으로 인한 산화상태를 완전히 없앨 수 있으며 이렇게 산화상태가 없어진 이후에 다음 실험을 진행하도록 한다.

3. 결과 및 고찰

3.1 전기화학적으로 활성화된 GC 전극의 전기화학적 특성

전기 화학적으로 활성화된 GC 전극과 CLB 간의 전기화학적 특성을 조사하기 위하여 순환 전압-전류법을 수행하였다. Fig. 1. 에서는 기존의 GC 전극을 사용하여 CLB 첨가 여부에 따른 분석한 결과를 보여주고 있다. Fig. 1(a)는 GC 전극을 사용하여 순환 전압-전류를 측정한 곡선이다. 여기에는 2×10^{-4} M의 CLB를 포함한 0.1 M의 HCl 전해질 용액을 사용하였다. 이와 비교하기 위하여, Fig. 1(b)는 CLB를 포함하지 않은 0.1 M HCl 전해질 용액에서 순환 전압-전류법을 수행한 곡선을 보여준다. 또한, Fig. 2. 에서는 전기 화학적으로 활성화된 GC 전극에 대한 순환 전압-전류법을 수행한 것을 보여주고 있다. Fig. 2(a)는 0.1 M의 HCl 전해질 용액에 2×10^{-4} M의 CLB를 포함하는 용액을 측정하는 것이고 Fig. 2(b)는 지지 전해질 용액에서 순환 전압-전류법을 수행한 곡선을 나타낸다.

CLB는 화학적 반응에 의해 높은 전위에서 낮은 양의 전위에서 준 가역적 커플 반응을 나타내는 반응을 증가시키는 비가역적 산화가 일어난다.²⁶⁾ Fig. 1과 2. 은 CLB의 산화-환원 피크가 크게 증가하는 것을 보여준다. 이는 전기화학적으로 활성화된 GC 전극의 사용으로 인한 흡착효과의 향상으로 인한 것으로, CLB 산화반응 후에 부가적으로 일어나는 화학적 반응에 의해 형성된 준 가역적 커플 반응의 효과 때문에 산화-환원 전류 증가를 보이는 것이다.

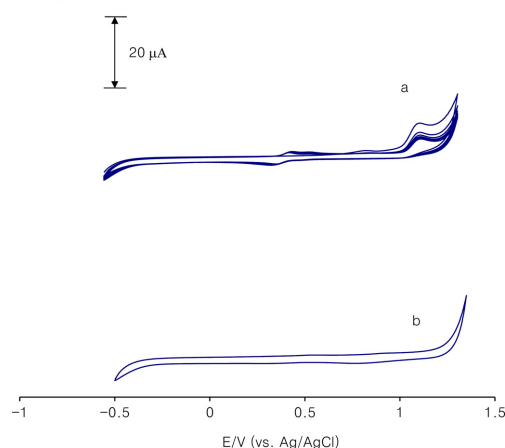


Fig. 1. Cyclic voltammograms of CLB on bare glassy carbon electrode: (a) repetitive cyclic voltammogram of 2×10^{-4} M CLB in 0.1 M HCl, (b) cyclic voltammogram in the supporting electrolyte; scan rate: 0.1 V/s.

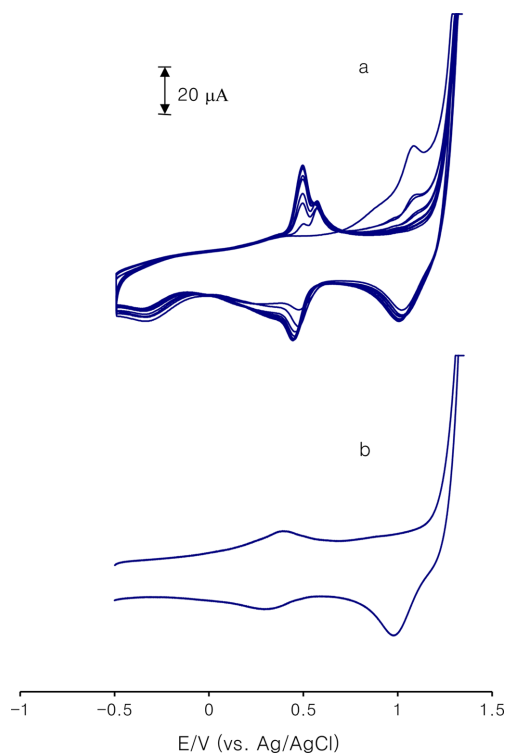


Fig. 2. Cyclic voltammograms of CLB on electrochemically activated glassy carbon electrode: (a) repetitive cyclic voltammogram of 2×10^{-4} M CLB in 0.1 M HCl, (b) cyclic voltammogram in the supporting electrolyte; scan rate: 0.1 V/s.

3.2 준 가역적 커플반응의 시차 펄스 전압-전류 법

Fig. 3(a)는 순환 전압-전류 스캔의 10 사이클 후 1×10^{-6} M의 CLB가 포함된 0.1 M의 HCl 전해질 용액에 전기화학적으로 활성화된 GC 전극으로 시차 펄스 전압-전류 법을 시행한 결과를 보여준다. Fig. 3(b)는 전기적으로 활성화 되지 않은 GC 전극을 사용하여 10 사이클 스캔 후의 동일하게 시행된 결과를 나타낸다. 전기화학적으로 활성화된 GC 전극의 사용이 감도의 상당한 개선을 보이고 있음이 확인된다. CLB의 분석을 위한 최적의 스캔 속도는 감도를 고려하여 20 mV/s로 고정하였다. 또한 시차 펄스 전압-전류 법 분석 전에 순환 전압-전류 법을 0 V에서 +1.35 V (vs. Ag/AgCl) 사이에서 반복적으로 수행하였고 준 가역적 커플반응이 전극 위에서 형성되었다. Fig. 4는 순환 전압-전류법의 스캔 횟수와 시차 펄스 전압-전류 법에 의한 피크 전류간의 관계를 보여주고 있다. 반복적인 누적 실험은 1×10^{-6} M CLB가 포함된 0.1 M HCl 전해질 용액에서 수행하였다. 1×10^{-6} M 농도의 CLB의 피크 전류는 순환 전압-전류의 스캔의

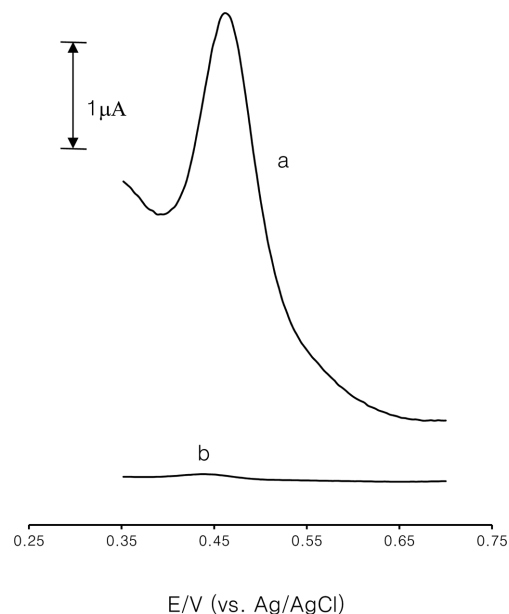


Fig. 3. Differential pulse voltammogram of 1×10^{-6} M CLB on: (a) electrochemically activated glassy carbon electrode, (b) bare glassy carbon electrode; scan rate: 20 mV/s; electrolyte solution: 0.1 M HCl.

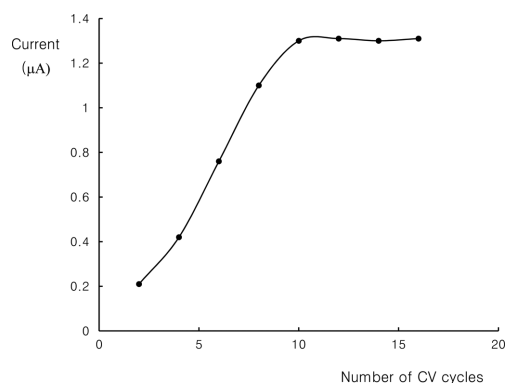


Fig. 4. The relationship between the number of CV cycles and the differential pulse voltammetric peak current due to following chemical process of 1×10^{-6} M CLB. DPV conditions: supporting electrolyte: 0.1 M HCl, scan rate: 0.02 V/s, potential range: 0.35 to 0.7 V (vs. Ag/AgCl).

수가 10회 될 때까지 증가하였다.

3.3 검출한계와 선형관계

본 연구에서 CLB를 정량 분석을 위한 최적의 조건에서 피크 전류의 검정 곡선을 그렸다. 그 결과 Fig. 5에서 확인 할 수 있듯이, CLB의 농도 1×10^{-7} M에서 2×10^{-5} M 범위에서 선형적 관계를 보였고 검출한계는

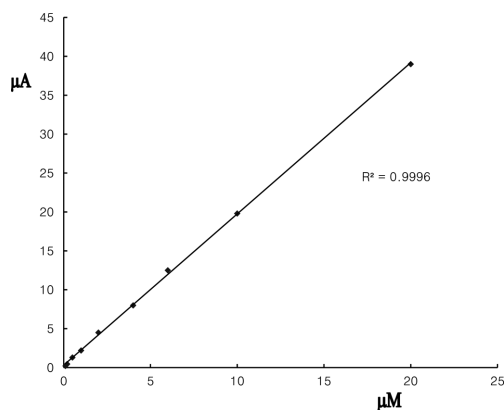


Fig. 5. Resulting plots illustrating the dependence of DPV peak current as a function of CLB concentration. Electrolyte solution: 0.1 M HCl; potential range: 0.35 to 0.7 V (vs. Ag/AgCl); scan rate: 0.02 V/s.

6×10^{-9} M (S/N = 3)로 확인되었다. CLB의 농도가 1×10^{-6} M에서의 상대표준편차는 4.3%이었다. 기존의 CLB의 전기 화학적 분석법과 비교 하였다. 전기 화학적 분석은 다양한 전극의 도입으로 분석이 이루어 졌는데, Table 1에 보면 그래핀 - 은 복합제, 백금 나노입자, 탄소 나노 튜브의 복합제, 그리고 멜라민과 은 나노입자의 복합제 등이 작업 전극으로 개질 되어 사용했다. 하지만 이들 방법은 작업 전극의 복잡한 개질 방법을 거쳐야 하며 본 연구에서 전기 화학적 방법으로 GC 전극을 활성화 시켜 CLB를 분석한 것과 큰 차이가 없으며, 더욱이 복합제 합성 단계가 없기 때문에 간단하고 저렴한 방법으로 전압-전류 방법을 통해 CLB를 정량 분석이 가능하다는 것을 알 수 있다.

3.4 간섭 실험 및 회수 실험

다양한 이온이 존재할 때 CLB의 정량 분석에 대한 간섭의 영향에 대한 실험이 이루어졌다. 모든 알칼리 이온, 암모늄이온, 알칼리 토 금속 이온 (Ca^{2+} , Mg^{2+}), 전이금속이온 (Fe^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}) 그리고 음이온(Cl^- , ClO_3^- , NO_3^- , S^{2-} , PO_4^{3-} , CH_3COO^- , SO_4^{2-})은 CLB 측정에 있어서 어떠한 간섭도 일어나지 않았다. 이러

한 관찰은 1×10^{-6} M 농도의 CLB의 분석에 있어서 다양한 이온의 100배 과량 존재 하에서 시차 펄스 전압-전류 법 시행에서도 다시 확인 할 수 있었다. 그러나 I^- 이온의 70배의 과량이 존재하면 CLB의 정량분석에 간섭을 미친다.

소변샘플을 통해 회수 실험을 하기 위해서는 소변에 포함된 다양한 물질들이 전극 표면에 흡착되어 측정을 방해할 수 있기 때문에, Collins 등이 개발한 방법으로 추출과정에 의해 실시해야 한다.³¹⁾

5×10^{-7} M에서 1×10^{-6} M 농도 사이의 CLB가 포함된 소변 샘플을 본 연구 방법으로 반복 측정하여 수행하였다. (n = 3) 그 결과, 다양한 양의 CLB가 포함된 소변 샘플로부터 96%의 회수율을 나타냈다. (Table 2)

4. 결 론

본 연구는 동물사료에 사용이 금지되고 있는 CLB를 전기화학적 방법으로 간단하고 빠른 방법으로 분석하기 위하여 전기 화학적으로 활성화된 GC 전극을 이용하여 시차 펄스 전압-전류 법으로 미량의 CLB를 정량 분석하였다. 전기화학적 활성을 통해 GC 표면을 개질 하였고 이러한 개질을 통해 전자의 이동을 빠르게 하고 물질의 흡착력을 향상시켜 CLB를 정량 분석하는데 기존의 GC 전극보다 더 효과적인 결과를 얻을 수 있었다. 전기화학적 활성된 GC 전극을 통해 미량의 CLB를 정량 하기 위한 좋은 직선성의 검정곡선을 얻었고(1×10^{-7} M에서 2×10^{-5} M의 CLB) 검출한계는 6×10^{-9} M (S/N = 3)이었다. 흡착효과로 인해 CLB 산화반응 후에 부가적으로 일어나는 화학적

Table 2. Measurements of Clenbuterol spiked in urine sample

Sample No	Added/ 10^{-7} M	Found/ 10^{-7} M	Average/ 10^{-7} M	Recovery, %
1	5.00	4.82, 7.75, 4.83	4.80	96.0
2	6.00	5.81, 5.77, 5.76	5.78	96.4
3	8.00	7.94, 7.77, 7.93	7.88	98.5
4	10.0	9.81, 9.85, 9.80	9.82	98.2

Table 1. Comparison of different methods for the detection of Clenbuterol

Techniques	Detection strategies	Detection range(nM)	LOD(nM)	Ref.
DPV*	Graphene oxide - Ag composites	0.036-36	0.025	[27]
DPV	Platinum nanoparticles	100-800	43.93	[28]
DPASV*	Multiwalled carbon nanotube composite	19.9-47600	1.38	[29]
LSV*	Melamine functionalized Ag NPs	0.01-100	0.01	[30]
DPV	Electrochemically activated glassy carbon	100-20000	6	This work

*DPV: Differential pulse voltammetry, DPASV: Differential pulse adsorptive stripping voltammetry, LSV: Linear sweep voltammetry

반응에 의해 형성된 준 가역적 커플반응의 산화-환원 피크의 증가를 확인 할 수 있었다. 검출한계와 선형관계의 그래프를 통하여 CLB의 농도가 $1 \times 10^{-6} \text{M}$ 에서의 상대표준편차는 4.3%이었고 실제 소변 샘플의 회수 실험을 통해 96%의 회수율을 나타내었다.

본 연구는 전기화학적으로 활성화된 GC 전극을 이용하여 시차 펄스 전압-전류 법을 통해 낮은 농도의 Clenbuterol 의 정량 분석이 가능하다는 것을 보여주고 있으며 이러한 방법은 다른 분석 방법에 비해 간단하고 신속하며 경제적인 방법이라는 것을 보여주고 있다.

Acknowledgements

This work was supported by a grant from the Ministry of Science, ICT and Future Planning, Republic of Korea (2014034504) and by the Center for Integrated Smart Sensors funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning, Republic of Korea, as Global Frontier Project (CISS-012M3 A6A6054186).

References

1. A. R. Barry and M. M. Graham, *J. Cardiol. Cases*, **2013**, 8, 131.
2. P. Gustin, M. Ansay and G. Maghuin-Rogister, *Ann. Med. Vét.*, **1988**, 62, 371.
3. G. Van Vyncht, S. Preece, P. Gaspar, G. Maghuin-Rogister and E. Depauw, *J. Chromatogr.*, **1996**, 750, 43.
4. H. H. D. Meyer, L. Rinke and I. Dursch, *J. Chromatogr.*, **1991**, 564, 551.
5. J. Girault and J.B. Fourtillan, *J. Chromatogr.*, **1990**, 518, 4.
6. B. A. Rashida, P. Kwasowskib and D. Stevenson, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1999**, 21, 635.
7. P. Gonzaleza, C. A. Fenteb, C. Francoc, B. Vazquezc, E. Quintoc and A. Cepedac, *J. Chromatogr. B*, **1997**, 693, 321.
8. C. Lopez-Erroz, P. Vinas, F. J. Cerdan and M. Hernandez-Cordoba, *Talanta*, **2000**, 53, 47.
9. M. Hernandez-Carrasquilla, *Anal. Chim. Acta*, **2000**, 408, 285.
10. L. X. Whaites and E. J. Murby, *J. Chromatogr. B*, **1999**, 728, 67.
11. C. Gausepohl and G. Blaschke, *J. Chromatogr. B*, **1998**, 713, 443.
12. A. Gleixner.; H. Sauerwein; H. H. D. Meyer, *Clinical Chemistry*, **1996**, 42, 1869.
13. A. Poletini, G. M. Boulard, and M. Montagna, *Anal. Chem.*, **1998**, 70, 1362.
14. G. A. Qureshi and A. Eriksson, *J. Chromatogr.*, **1988**, 441, 197.
15. S. Moanea, J. B. Rodriguez, A. J. M. Ordieresa, P. T. Blancoa and M. R. Smyth, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **1995**, 14, 57.
16. S. Moanea, M. R. Smyth and M. O'Keeffe, *Analyst*, **1996**, 121, 779.
17. T. Nagaoka, T. Yoshino, *Anal. Chem.*, **1986**, 58, 1037.
18. A. L. Beilby, T. A. Sasaki, H. M. Stern, *Anal. Chem.*, **1995**, 67, 976.
19. K. Shi, K. K. Shiu, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, 879.
20. Z. N. Zhang, C. H. Lei, W. L. Sun, H. Y. Liu, J. Q. Deng, *J. Electroanal. Chem.*, **1996**, 419, 85.
21. R. L. McCreery, *Electroanalytical Chemistry*, **1991**, 17, 221.
22. K. K. Shiu, F. Y. Song, *Electroanalysis*, **1998**, 10, 256.
23. M. L. Bowers, B. A. Yenser, *Anal. Chim. Acta*, **1991**, 243, 43.
24. K. K. Shiu and K. Shi, *Electroanalysis*, **2000**, 12, 134.
25. Y. Kong, X. Chen, C. Yao, M. Ma and Z. Chen, *Anal. Methods*, **2011**, 3, 2121.
26. G. A. Qureshi and A. Eriksson, *J. Chromatogr.*, **1988**, 441, 197.
27. J. Bai, Y. J. Lai, D. W. Jiang, Y. B. Zeng, Y. Z. Xian, F. Xiao, N. D. Zhang, J. Hou, L. T. Jin, *Analyst* **2012**, 137, 4349.
28. B. Bo, X. J. Zhu, P. Miao, D. Pei, B. Jiang, Y. Lou, Y. Q. Shu, G. X. Li, *Talanta*, **2013**, 113, 36.
29. R. R. Gaichore, A. K. Srivastava, *J. Appl. Electrochem.*, **2012**, 42, 979.
30. P. Mial, K. Han, H. Sun, J. Yin, J. Zhao, B. Wang, Y. Tang, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6, 8667.
31. S. Collins, M. O'keeffe and M. R. Smyth, *Analyst*, **1994**, 119, 2671.