

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie



**TESTOVÁNÍ LEŠTĚNÉ STŘÍBRNÉ PEVNÉ
AMALGÁMOVÉ KOMPOZITNÍ ELEKTRODY
PRO VOLTAMETRICKÉ STANOVENÍ
ENVIRONMENTÁLNÍCH POLUTANTŮ**

**TESTING OF POLISHED SILVER SOLID AMALGAM
COMPOSITE ELECTRODE FOR VOLTAMMETRIC
DETERMINATION OF ENVIRONMENTAL
POLLUTANTS**

Bakalářská práce

studijního oboru Klinická a toxikologická analýza

PRAHA 2010

JAN DĚDÍK

Abstrakt

Cílem této práce bylo nalézt vhodné podmínky pro stanovení vybraných modelových environmentálních polutantů – 5-nitrobenzimidazolu a kyseliny pikrové – pomocí technik DC voltametrie (DCV) a diferenční pulsní voltametrie (DPV) na leštěné stříbrné pevné amalgámové kompozitní elektrodě (p-AgSA-CE) ve vodných roztocích Brittonova-Robinsonova (B-R) pufru a nalezení meze stanovitelnosti (L_Q) pro tyto látky. Pro 5-nitrobenzimidazol byly nalezeny optimální podmínky voltametričkého stanovení v prostředí B-R pufru o pH 5, ale nebyly získány kalibrační závislosti. Důvodem byla s časem se zhoršující kvalita odezvy 5-nitrobenzimidazolu, která i přes pravidelné provádění předúpravy pracovní elektrody vedla k nereprodukovatelným výsledkům. Pro kyselinu pikrovou byly pro DPV i DCV na p-AgSA-CE zjištěny vhodné podmínky v prostředí B-R pufru o pH 2. Koncentrační závislosti byly pro techniku DPV proměřeny v rozmezí 1.10^{-6} až 1.10^{-4} mol.L⁻¹ s dosaženou L_Q $2,5.10^{-7}$ mol.L⁻¹ a pro techniku DCV v rozmezí 1.10^{-7} až 1.10^{-4} mol.L⁻¹ s hodnotou L_Q vypočtenou na $5,5.10^{-8}$ mol.L⁻¹. Pro srovnání nově vyvinutých voltametričských metod stanovení kyseliny pikrové bylo provedeno UV-VIS spektrofotometrické stanovení v deionizované vodě v koncentračním rozmezí 2.10^{-6} až 1.10^{-4} mol.L⁻¹ s dosaženou L_Q $2,5.10^{-6}$ mol.L⁻¹.

Abstract

The aim of this study was the finding of applicable conditions for the determination of selected model environmental pollutants, namely 5-nitrobenzimidazole and picric acid, using DC voltammetry (DCV) and differential pulse voltammetry (DPV) at a polished silver solid amalgam composite electrode (p-AgSAE-CE) in the aqueous solution of Britton-Robinson (BR) and finding of the limit of quantification (L_Q) for these substances. For 5-nitrobenzimidazole, the optimum conditions of voltammetric determination have been found in the medium of B-R buffer pH 5, but any calibration dependences were obtained. The reason was the deteriorating quality of 5-nitrobenzimidazole response even if the routine pretreatment of working electrode was maintained. This resulted in obtaining of irreproducible results upon the determination of 5-nitrobenzimidazole. For picric acid, the optimum conditions have been found for both DPV and DCV at p-AgSAE-CE in the medium of B-R buffer pH 2. The concentration dependences were measured in the range 1.10^{-6} - 1.10^{-4} mol.L⁻¹ for DPV with the value of reached L_Q $2,5.10^{-7}$ mol.L⁻¹ and, for DCV, in the range 1.10^{-7} - 1.10^{-4} mol.L⁻¹ with L_Q calculated as $5,5.10^{-8}$ mol.L⁻¹. For comparison of newly developed voltammetric methods of picric acid determination, a UV-VIS spectrophotometric determination in deionized water was developed in the concentration range 2.10^{-6} - 1.10^{-4} mol.L⁻¹ with L_Q reached $2,5.10^{-6}$ mol.L⁻¹.

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumných záměrů MŠMT ČR (projekty MSM 0021620857, LC 06035 a RP 14/63) a z těchto projektů byla také finančně podporována.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením školitele Mgr. Vlastimila Vyskočila, Ph.D., a že jsem všechny použité prameny řádně citoval. Jsem si vědom 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 31. května 2010

.....

podpis

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli Mgr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za vedení a užitečné připomínky a rady při tvorbě bakalářské práce a také všem ostatním, kteří mi jakkoliv v průběhu této bakalářské práce ochotně pomohli.

Moje poděkování patří také mým rodičům a všem, kteří mě během studia podporovali.

Předmětová hesla

Analytická chemie
Elektrochemie
Voltametrie
Nitrované cyklické aromatické sloučeniny

Klíčová slova

5-Nitrobenzimidazol
Kyselina pikrová
DC voltametrie
Diferenční pulsní voltametrie
Leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda
UV-VIS absorpční spektrofotometrie

Objective Words

Analytical Chemistry
Electrochemistry
Voltammetry
Nitrated Cyclic Aromatic Compounds

Key Words

5-Nitrobenzimidazole
Picric Acid
DC Voltammetry
Differential Pulse Voltammetry
Polished Silver Solid Amalgam Composite Electrode
UV-VIS Absorption Spectrophotometry

Obsah

1.	Úvod.....	9
1.1.	Cíl práce.....	9
1.2.	Chemické a fyzikální vlastnosti a výskyt 5- nitrobenzimidazolu.....	10
1.2.1.	Studie toxicity u zvířat.....	10
1.2.2.	Chování látky v životním prostředí.....	11
1.3.	Analytické laboratorní metody stanovení 5- nitrobenzimidazolu.....	11
1.3.1.	Polarografické a voltametrické metody.....	11
1.3.2.	Chromatografické metody.....	12
1.3.3.	Spektrometrické metody.....	12
1.4.	Chemické a fyzikální vlastnosti a výskyt kyseliny pikrové.....	13
1.4.1.	Vliv na lidské zdraví.....	13
1.4.2.	Studie toxicity u zvířat.....	14
1.4.3.	Metabolické přeměny.....	14
1.4.4.	Chování látky v životním prostředí.....	14
1.5.	Analytické laboratorní metody stanovení kyseliny pikrové.....	15
1.5.1.	Elektrochemické metody.....	15
1.5.2.	Chromatografické metody.....	15
1.5.3.	Spektrometrické metody.....	15
1.5.4.	Imunochemické metody.....	15
2.	Experimentální část.....	16
2.1.	Reagencie.....	16
2.1.1.	Studované látky.....	16
2.1.2.	Ostatní použité chemikálie.....	16
2.2.	Aparatura.....	16
2.2.1.	Leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda.....	17
2.3.	Pracovní postupy.....	17

2.3.1.	Předúprava pracovní elektrody	17
2.3.2.	Voltametrické měření	18
2.3.3.	Zpracování výsledků.....	20
2.3.4.	Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA	21
2.3.5.	Měření stálosti zásobního roztoku kyseliny pikrové.....	23
3.	Voltametrické stanovení studovaných látek	23
3.1.	Stanovení 5- nitrobenzimidazolu.....	23
3.1.1.	DPV technika	23
3.1.1.1.	Vliv pH.....	23
3.1.1.2.	Vliv regeneračních potenciálů.....	26
3.1.2.	DCV technika	31
3.1.2.1.	Vliv pH.....	31
3.2.	Stanovení kyseliny pikrové	33
3.2.1.	DPV technika.....	33
3.2.1.1.	Vliv pH.....	33
3.2.1.2.	Vliv regeneračních potenciálů.....	36
3.2.1.3.	Kalibrační závislost.....	38
3.2.2.	DCV technika	41
3.2.2.1.	Vliv pH.....	41
3.2.2.2.	Vliv regeneračních potenciálů.....	44
3.2.2.3.	Kalibrační závislost.....	46
4.	Spektrofotometrická stanovení	50
4.1.	Spektrofotometrické stanovení 5-NBIA	50
4.2.	Spektrofotometrické stanovení kyseliny pikrové	50
5.	Závěr	52
6.	Literatura.....	54

Seznam použitých zkratk a symbolů

5-NBIA	5-nitrobenzimidazol
AdSV	adsorpční rozpouštěcí voltametrie
B-R pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
CAS	Chemical Abstract Service
DCV	DC voltametrie
DPP	diferenční pulsní polarografie
DPV	diferenční pulsní voltametrie
E	potenciál (mV)
E_p	potenciál píku látky (mV)
E_{reg}	regenerační potenciál
ECD	detektor elektronového záchytu
GC	plynová chromatografie
RP-HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (na obrácené fázi)
I	elektrický proud (nA)
I_p	elektrický proud píku látky (nA)
K_{ow}	rozdělovací koeficient oktanol-voda
LD ₅₀	poloviční smrtná dávka
LLE	extrakce kapalinou
L_Q	mez stanovitelnosti (mol L ⁻¹)
p-AgSA-CE	leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda
MS	hmotnostní spektrometrie
n	počet měření
NPAH	nitrované polycyklické aromatické uhlovodíky
R	korelační koeficient
r	mez opakovatelnosti
s	směrodatná odchylka
SFE	extrakce superkritickou tekutinou
SPE	extrakce tuhou fází
s_r	relativní směrodatná odchylka
TLC	tenkovrstvá chromatografie
ZE	základní elektrolyt
α	hladina významnosti

1. Úvod

1.1. Cíl práce

Bakalářská práce byla vypracována na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze, v UNESCO laboratoři elektrochemie životního prostředí, která se soustavně zabývá elektrochemickými metodami stanovení stopových množství biologicky, ekologicky, farmaceuticky, lékařsky nebo toxikologicky významných organických sloučenin.

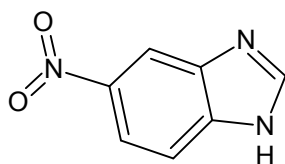
Tato práce má za cíl zjistit vhodné podmínky pro stanovení vybraných environmentálních polutantů, jmenovitě kyseliny pikrové (2,4,6-trinitrofenolu) a 5-nitrobenzimidazolu (5-NBIA) použitím technik diferenční pulsní voltametrie (DPV) a DC voltametrie (DCV) na leštěné stříbrné pevné amalgámové kompozitní elektrodě (p-AgSA-CE) a porovnání s výsledky UV-VIS spektrofotometrického stanovení. Vyvinutím těchto voltametrických metod má být ověřena možnost aplikovatelnosti p-AgSA-CE jako senzoru pro případné stanovení vybraných environmentálních polutantů ve vodném prostředí.

1.2. Chemické a fyzikální vlastnosti a výskyt 5- nitrobenzimidazolu

CAS Name: 5-Nitrobenzimidazole.

CAS Registry Number: 94-52-0.

Strukturní vzorec:



Sumární vzorec: $C_7H_5N_3O_2$.

Molekulová hmotnost: 163,14.

Bod tání: 203°C.

5-Nitrobenzimidazol (5-NBIA) je pevná látka, která po vykrytalizování tvoří jehlice, nepatrně se rozpouští v benzenu, chloroformu a etheru, velmi dobře se rozpouští v etanolu, ve vodě lze rozpustit více než 250 mg.l^{-1} při blíže neurčené teplotě [1]. 5-NBIA má dvě absorpční maxima v etanolu 235 nm a 302 nm [2] a dvě absorpční maxima ve vodě 234 nm a 309 nm. Pokud je látka zahřívána až do svého rozkladu, uvolňuje toxické páry oxidů dusíku [3].

5-NBIA patří do skupiny látek, která se nazývá nitrované polycyklické heterosloučeniny nebo také azaareny. Používá se jako ustalovač při vyvolávání fotografií [4]. 5-NBIA se připravuje reakcí o-fenyldiaminu s kyselinou mravenčí za vzniku benzimidazolu, po níž následuje nitrace benzenového jádra [5].

1.2.1. Studie toxicity u zvířat

Stejně jako u nitrovaných polycyklických aromatických uhlovodíků (NPAHů) [6-10], se kterými jsou si blízké svou strukturou, byla u této látky prokázána karcinogenita u myši při podávání 5-NBIA do potravy [11] a mutagenita na bakteriích *Salmonella typhimurium* [12].

Při studiu toxického účinku na krysách při podávání do potravy vyvolala látka nerakovinová poškození [11]. Pro myši byla stanovena smrtelná dávka LD₅₀ na 125-150 mg.kg⁻¹ [13].

1.2.2. Chování látky v životním prostředí

5-NBIA se v neutrálních půdách vyskytuje v neutrální formě, v kyselých půdách je protonován [14]. Z půdy se vypařuje minimálně [15]. K odbourávání 5-NBIA dochází v půdě například díky bakterii *Salmonella typhimurium*, která používá enzymy nitroreduktasy [16]. Tento pochod není ale příliš významný, protože vzniká aminobenzimidazol, který dále odbouráván není a navíc pozastavuje růst mnoha dalších bakterií [1, 17]. V atmosféře se může tato látka vyskytovat jak ve formě páry, tak i ve formě malých pevných částic [18]. Páry 5-NBIA reagují s fotochemicky vzniklými hydroxylovými radikály [19]. Pevné částice 5-NBIA mohou být ze vzduchu odstraněny ve formě aerosolů buď suchou, nebo vlhkou cestou. 5-NBIA také může reagovat přímo se světlem, a být tedy fotochemicky degradován, protože reaguje se zářením v UV oblasti. Ve vodě nedochází k usazování 5-NBIA v sedimentech [20], schopnost postupné akumulace ve vodních organismech je velmi malá [1].

1.3. Analytické laboratorní metody stanovení 5-nitrobenzimidazolu

Látky jako jsou NPAHy a azaareny lze stanovit několika analytickými metodami. Patří mezi ně chromatografické, spektrofotometrické, polarografické a voltametrické metody a jejich kombinace. Pro zvýšení selektivity se dají těmto stanovením předřadit předběžné separace pomocí extrakce kapalina-kapalina (LLE) [21], extrakce do pevné fáze (SPE) [21-23], pomocí ultrazvuku [24] nebo extrakce superkritickou tekutinou (SFE) [25].

1.3.1. Polarografické a voltametrické metody

NPAHy a azaareny obsahující nitroskupinu mohou být stanoveny pomocí elektrochemických metod, jelikož elektroaktivní nitroskupina je redukovatelná. Stanovení této skupiny látek v stopových množstvích lze provést pomocí diferenční pulzní polarografie (DPP), diferenční pulzní voltametrie (DPV) a adsorpční rozpouštěcí voltametrie (AdSV) [21, 26-28]. V současné době je snaha o nahrazení rtuťových elektrod jinými typy, jako jsou stříbrná elektroda, grafitová kompozitní elektroda, stříbrná kompozitní elektroda [29, 30], stříbrná pevná amalgámová elektroda [31, 32], stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda [33].

1.3.2. Chromatografické metody

Pomocí chromatografických metod byly NPAHy a azaareny stanovovány už v 80. letech, používala se kapalinová [34, 35] nebo plynová chromatografie [36]. Chromatografické metody jsou výhodné kvůli vysoké citlivosti a účinnosti separace [37]. Velmi snadnou a rychlou metodou stanovení s dobrou opakovatelností je tenkovrstevná chromatografie (TLC) [38, 39]. Zcela běžně se tyto látky stanovují pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) [23] a její formě na obrácené fázi (RP-HPLC) [25, 40-42] v množství několika stovek až jednotek pikogramů. Nitrosloučeniny lze pro analýzu HPLC upravit předem redukcí na aminosloučeniny [43] nebo spřaženou elektrochemickou redukcí následující po dělení v koloně [24, 41]. Stanovení se provádí i pomocí plynové chromatografie (GC) s různými typy detektorů, např. hmotnostním spektrometrem (MS) [36, 37, 39] či detektorem elektronového záchytu (ECD) [44].

1.3.3. Spektrometrické metody

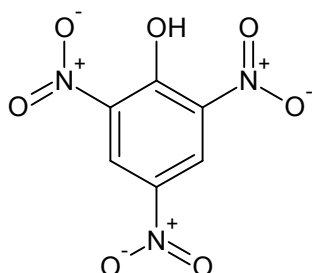
Spektrofotometrické stanovení lze provést, protože 5-NBIA obsahuje dva aromatické systémy, benzenové jádro a kruh s heteroatomem. Látka absorbuje světlo v ultrafialové a viditelné oblasti světla, jak již bylo popsáno výše.

1.4. Chemické a fyzikální vlastnosti a výskyt kyseliny pikrové

CAS Name: 2,4,6-Trinitrophenol.

CAS Registry Number: 88-89-1.

Strukturní vzorec:



Molekulový vzorec: C₆H₃N₃O₇.

Molární hmotnost: 229,11.

Bod tání: 122-123°C.

Hustota: 1,763 g.cm⁻³.

Disociační konstanta: pK_a = 0,35 při 25°C.

Rozdělovací koeficient oktanol/voda: log K_{ow} = 1,33.

Kyselina pikrová je pevná látka, tvoří žluté krystaly, nemá žádný zápach. Je rozpustná ve vodě, etanolu, etheru a velmi dobře rozpustná v acetonu. V suchém, pevném stavu je velmi citlivá k otřesům [45]. Kyselina pikrová absorbuje ve vodném roztoku světelné záření v oblasti blízkého a středního UV záření při vlnových délkách 205 a 357 nm.

1.4.1. Vliv na lidské zdraví

Systematická otrava požitím kyseliny pikrové vyvolává bolesti hlavy, závratě, projevuje se ztmavnutím moči. Vysoké dávky ničí červené krvinky a vyvolávají poruchy trávicího ústrojí, hemorhagickou nefritidu a akutní žloutenku, která se projevuje zežloutnutím všech tkání včetně rohovky [46, 47]. Při akutním pozření může nastat lokální nebo celková alergická reakce. Po pozření nebo po absorpci přes kůži může dojít k nevolnosti, zvracení, svědění, střevním potížím, břišním bolestem, můžou se objevit žluté skvrny na kůži, v tomto

případě nejde o žloutenku, ale o anurii a oligurii, při kterých mohou nastat křeče až smrt [48]. Ke smrti dochází v důsledku poškození ledvin a anurie. Zřídka předchází smrti žloutenka a stav ustrnutí v kómatu [49]. Kontakt prášku kyseliny pikrové s kůží vyvolává vyrážky na kůži. Obvykle se to týká obličeje, hlavně v oblasti nosu a úst. Konečným projevem je tvorba otoků, puchýřků a nakonec odloupávání kůže [46]. Páry a prach kyseliny pikrové dráždí oči, projevy můžou být zesíleny zvýšenou citlivostí na tuto látku. Při zasažení očí dochází k poškození rohovky [47]. Do styku s kyselinou pikrovou se dostanou hlavně pracovníci zacházející s výbušninami a elektrickými bateriemi, v provozovnách, kde se leptá měď a vyrábí barevné sklo [50]. Kyselina pikrová se využívá také ke stanovení kreatininu v klinických a biochemických laboratořích [51, 52].

1.4.2. Studie toxicity u zvířat

Kyselina pikrová, stejně jako další podobné aromatické sloučeniny, urychluje uvolňování acetylcholinu z nervových zakončení a vyvolává tak stahy tenkého střeva u morčat [53]. U bakterií rodu *Salmonella* byly vyvolány mutace působením kyseliny pikrové v přítomnosti mikrosomů, v jejich nepřítomnosti nebyl tento proces pozorován [54, 55]. U bakterií *Salmonella typhimurium* byla mutagenita (delece nebo inserce jednoho nebo několika párů bází, bodová mutace) prokázána pouze po přidání homogenátu preparátu krysích jater [56]. Pro králíky byla smrtná dávka LD₅₀ po podkožním podání stanovena na 120 mg.kg⁻¹, pro kočky 500 mg.kg⁻¹ a pro psy 100-125 mg.kg⁻¹. Po podání akutní smrtné dávky zemřeli psi na ochrnutí dýchací soustavy. Výsledkem pitvy bylo nalezení žlutých skvrn v podkožním tuku, plicích a trávicím ústrojí [54]. Roztok kyseliny pikrové v pufru vytváří velmi závažná poškození, pokud se dostane do styku s okem králíka, přičemž není žádný rozdíl v závažnosti poškození při pH roztoku od 1,5 do 9 [57].

1.4.3. Metabolické přeměny

V těle je kyselina pikrová metabolizována redukční reakcí v játrech, ledvinách a slezině nebo je vylučována z těla nepozměněna. K největší metabolické přeměně dochází v játrech, kde se redukuje na kyselinu pikramovou (2-amino-4,6-dinitrofenol) [54].

1.4.4. Chování látky v životním prostředí

Do životního prostředí se může kyselina pikrová dostat různými cestami pro vypouštění odpadů z továren, kde se používá. Ve vzduchu se vyskytuje jak ve formě páry tak

i pevných částic. Páry kyseliny pikrové reagují ve vzduchu s fotochemicky vytvářenými hydroxylovými radikály [19]. Pevné částičky jsou ze vzduchu odstraňovány vlhkostí. Pokud se dostane do vlhké půdy, objevuje se v ní ve formě aniontu. Vypařování kyseliny pikrové z půdy téměř neprobíhá a není důležité pro její koloběh v životním prostředí [58]. V aerobních podmínkách nedochází k jejímu rozkladu [59], ale v anaerobních podmínkách v zásaditém prostředí je přeměňována na 2-amino-4,6-dinitrofenol [60]. Při úniku do vody se zde vyskytuje ve formě aniontu [58] a neusazuje se ve vodních sedimentech [61], ani se nehromadí ve vodních organismech [1].

1.5. Analytické laboratorní metody stanovení kyseliny pikrové

1.5.1. Elektrochemické metody

Kyselinu pikrovou je možné stanovit pomocí voltametrických metod, kdy můžeme využít redukčních dějů elektroaktivních NO₂ skupin. Pro stanovení pikrátových aniontů se používají potenciometrické membránové senzory, kterých lze využít při potenciometrické titraci alkaloidů [62].

1.5.2. Chromatografické metody

Kyselina pikrová se ve vzorcích ze vzduchu, vody a půdy stanovuje pomocí TLC [63], kapalinové chromatografie s membránovým optickým chemickým detektorem [64, 65] nebo MS [66]

1.5.3. Spektrometrické metody

Vzhledem k absorpci světla v UV oblasti se kyselina pikrová stanovuje spektrofotometricky měřením absorbance už od 60. let [67-69], v novějších pracích pomocí membránového senzoru z optického vlákna [70, 71].

1.5.4. Imunochemické metody

K velmi citlivému stanovení až pro koncentrace 10 ppt se dá využít imunosenzor založený na nepřímé kompetici mezi stanovovanou kyselinou pikrovou a kyselinou pikrovou navázanou na hovězí sérový albumin při reakci s protilátkami proti kyselině pikrové [72].

2. Experimentální část

2.1. Reagencie

2.1.1. Studované látky

5-Nitrobenzimidazol (98%, Sigma-Aldrich, SRN). Ze 0,01643 g 5-NBIA bylo připraveno rozpuštěním v deionizované vodě 100 mL zásobního roztoku 5-NBIA o koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Pro úplné rozpuštění musela být použita sonifikace v ultrazvukové lázni po dobu 30 minut. Roztoky o nižších koncentracích se získávaly naředěním zásobního roztoku. Zásobní roztok byl uchováván ve tmě při laboratorní teplotě.

2,4,6-Trinitrofenol (kyselina pikrová) (p.a., Lachema, Brno). Zásobní roztok o celkovém objemu 100 mL a koncentraci $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ byl připraven rozpuštěním 0,02298 g kyseliny pikrové v deionizované vodě. Roztoky o nižší koncentraci byly získány rovněž naředěním zásobního roztoku, který byl taktéž uchováván ve tmě při laboratorní teplotě.

2.1.2. Ostatní použité chemikálie

Kyselina trihydrogenfosforečná (H_3PO_3 , 85%, $\rho=1,71 \text{ g.cm}^{-3}$, p.a., Lach-Ner, Neratovice), octová kyselina (CH_3COOH , 99,8%, $\rho=1,05 \text{ g.cm}^{-3}$, p.a., Lach-Ner, Neratovice), kyselina trihydrogenboritá (H_3BO_3 , p.a., Lachema, Brno), chlorid draselný (KCl, p.a., Lach-Ner, Neratovice), hydroxid sodný (NaOH, p.a., Lach-Ner, Neratovice), deionizovaná voda (Milipore, USA).

Kyselá složka Brittonova-Robinsonova pufru byla připravena obecně používaným postupem z kyseliny trihydrogen borité, octové kyseliny a kyseliny fosforečné (všechny ve výsledné koncentraci $0,04 \text{ mol.L}^{-1}$). Zásaditá složka obsahovala hydroxid sodný o koncentraci $0,2 \text{ mol.L}^{-1}$. Brittonovy-Robinsonovy pufrы o daném pH se připravily smícháním kyselé a zásadité složky.

2.2. Aparatura

Voltametrická měření se prováděla na přístroji Eco-Tribo Polarograf (Eco-Trend Plus, Praha) ovládaným přes počítač programem Polar Pro 5.1 (Polaro-Sensors, Praha), který pracoval v operačním systému Microsoft Windows XP (Microsoft Corporation, USA).

Měření probíhala v tříelektrodovém zapojení. Pracovní elektrodou byla leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda (s průměrem disku 2,9 mm a povrchem disku 6,6 mm²; Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, Praha). Jako referentní elektroda sloužila argentchloridová elektroda (3 mol.L⁻¹) typ RTP-CZ-00608 a jako pomocná elektroda se používala platinová drátková elektroda (obě Monokrystaly, Trutnov).

Spektrofotometrická stanovení byla provedena na spektrofotometru Agilent 8453 (Agilent Technologies, USA) v programu UV-Visible ChemStation (Agilent Technologies, USA). K měření pH připravených pufrů sloužil pH-metr Jenway 4330 (Jenway, Velká Británie) s kombinovanou skleněnou elektrodou nakalibrovaný pomocí standardních roztoků pufrů.

2.2.1. Leštěná stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda

Stříbrná pevná amalgámová kompozitní elektroda vznikla kombinací pevné stříbrné amalgámové elektrody a pevné kompozitní elektrody. Spojuje v sobě výhodné vlastnosti obou těchto typů elektrod. Elektroda je stálá, mechanicky odolná, snadno se s ní manipuluje, neobsahuje kapalnou rtuť, jejíž používání se v současné době omezuje, a má vysokou zápornou hodnotu přepětí vodíku. Dá se použít jak pro stanovení organických sloučenin s elektroaktivními skupinami, tak pro stanovení anorganických iontů. Naproti tomu musí být její povrch pravidelně obnovován. Její zvláštností je, že díky způsobu přípravy, se amalgámové částice rozptýlené na povrchu elektrody mohou chovat částečně jako soubor mikroelektrod [33, 73]

2.3. Pracovní postupy

2.3.1. Předúprava pracovní elektrody

Před použitím elektrody k měření se provádí 3 kroky:

1. Mechanické čištění a leštění se používá, pokud dojde k výraznému zhoršení odezvy, např. zanesením aktivních míst na povrchu elektrody, kdykoli během měření. K mechanickému čištění se dá využít jemný smirkový papír, leštění se provádí aluminou na sametovém podkladu. Pro tento účel byla použita souprava PK-4 Polishing kit (BASi, USA) a alumina s velikostí částic 1,1 μm.

2. Elektrochemická aktivace elektrody v KCl. Při aktivaci se postupuje tak, že voltametričnou nádobku naplníme 10 mL roztoku 0,2 M KCl. Do něj ponoříme elektrodu a vložíme na ní napětí -2200 mV po dobu 5 minut bez probublávání dusíkem za stálého míchání. Při tomto potenciálu se z povrchu elektrody odstraňují oxidy a naadsorbované látky. Takto můžeme zlepšit opakovatelnost a citlivost stanovení. Elektrochemická aktivace byla prováděna na počátku každého dne, kdy se s elektrodou měřilo.

3. Regenerace elektrody byla programově nastavena a řízena, uskutečnila se před každým měřením vzorku. Probíhala tak, že na elektrodu byly střídavě v pulsech o délce 0,1 s vkládány regenerační potenciály po dobu 30 s. Pro sledování chování látky při různém pH bylo nezbytné nalézt regenerační potenciály pro každou hodnotu pH zvlášť, pro metody DPV a DCV byly použity stejné hodnoty. Nalezené hodnoty jsou zaznamenány v tab. 1.

Tab.1 Počáteční (E_{reg1}) a konečné (E_{reg2}) regenerační potenciály zjištěné měřením ZE a použité při DCV i DPV měření pro daná pH ve vodném roztoku B-R pufru

pH	E_{reg1} [mV]	E_{reg2} [mV]
2,0	200	-950
3,0	50	-1000
4,0	0	-1050
5,0	0	-1150
6,0	-50	-1200
7,0	-50	-1300
8,0	-100	-1350
9,0	-100	-1450
10,0	-150	-1450
11,0	-150	-1500
12,0	-200	-1500
12,9	-250	-1600

2.3.2. Voltametričká měření

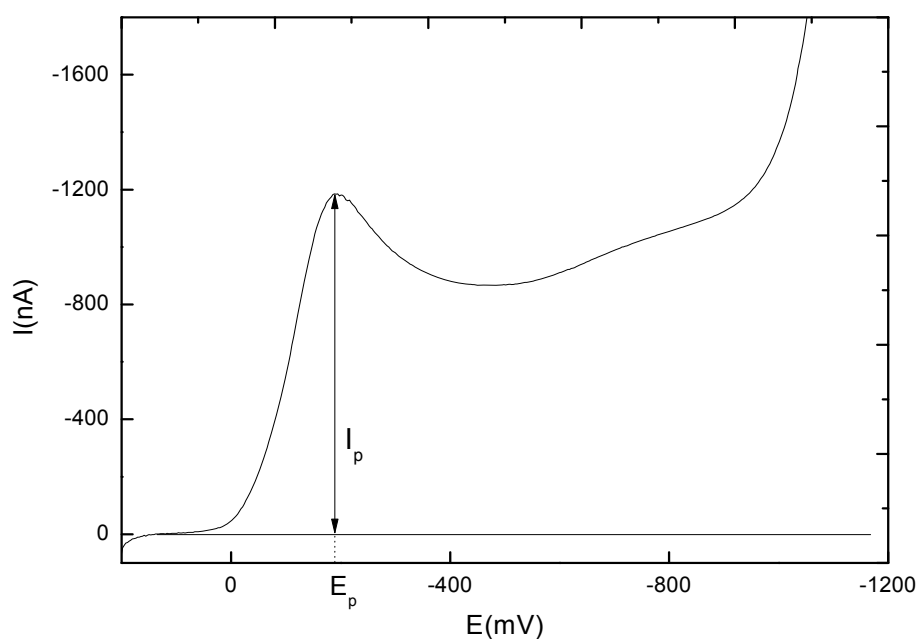
Pro získání regeneračních potenciálů bylo do voltametričké nádobky odpipetováno 9 mL B-R pufru o daném pH a 1 mL destilované vody, tzv. základní elektrolyt (ZE). Elektrodová reakce se nechala probíhat až do okamžiku, kdy v anodické oblasti proudu začala křivka strmě klesat a v katodické oblasti proudu strmě stoupat. Dvojice potenciálů počátku těchto nárůstů byly zvoleny jako potenciály regenerační. Při měření odezvy studované látky v závislosti na měnícím se pH byl do 10mL odměrné baňky napipetován 1 mL vzorku a baňka byla doplněna po rysku puftrem o daném pH. Takto připravený vzorek byl přelit do voltametričké nádobky a probublával se 5 minut dusíkem, aby byl zbaven kyslíku.

Při proměření kalibrační závislosti byly do 10mL odměrných baněk připravovány roztoky o daných koncentracích odpipetováním příslušného množství stanovované látky a odměrná banka byla doplněna po rysku puřrem o zjiřtěném vhodném pH. Tato měření byla provedena pětkrát pro každou hodnotu pH i pro každou koncentraci vzorku. Měření opakovatelnosti s regeneračním krokem mezi měřeními a bez regeneračního kroku mezi měřeními byla provedena dvacetkrát.

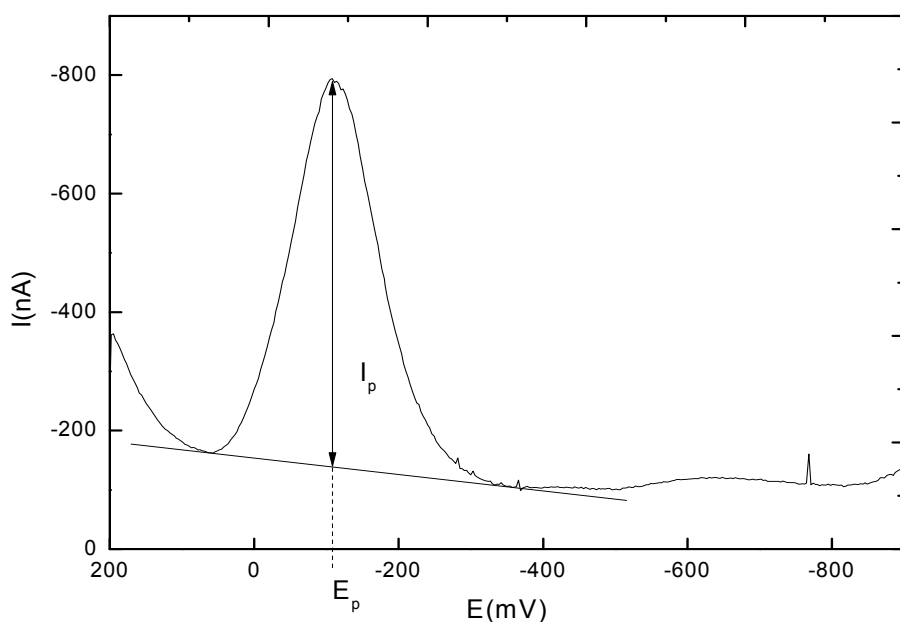
Pro metodu DPV byly v řídícím programu nastaveny tyto parametry: výřka pulsu -50 mV, řířka pulsu 100 mV, rychlost skenu $20 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ a počet regenerační cyklů 150. Rychlost skenu a počet regeneračních cyklů byly stejné i pro metodu DCV.

2.3.3. Zpracování výsledků

Výpočty a grafy, které jsou v této práci uváděny, byly získány použitím programů Origin 8 (OriginLab Corporation, USA) a Microsoft Excel 2003 (Microsoft Corporation, USA). Mez stanovitelnosti byla vypočtena jako desetinásobek směrodatné odchylky deseti měření sledované látky o koncentraci odpovídající nejnižšímu bodu příslušné kalibrační přímky. Ukázka vyhodnocení voltamogramů je zobrazena pro DCV na obr. 1 a pro DPV na obr. 2. Voltamogramy byly vyhodnocovány stejným způsobem jak pro kyselinu pikrovou tak pro 5-NBIA.



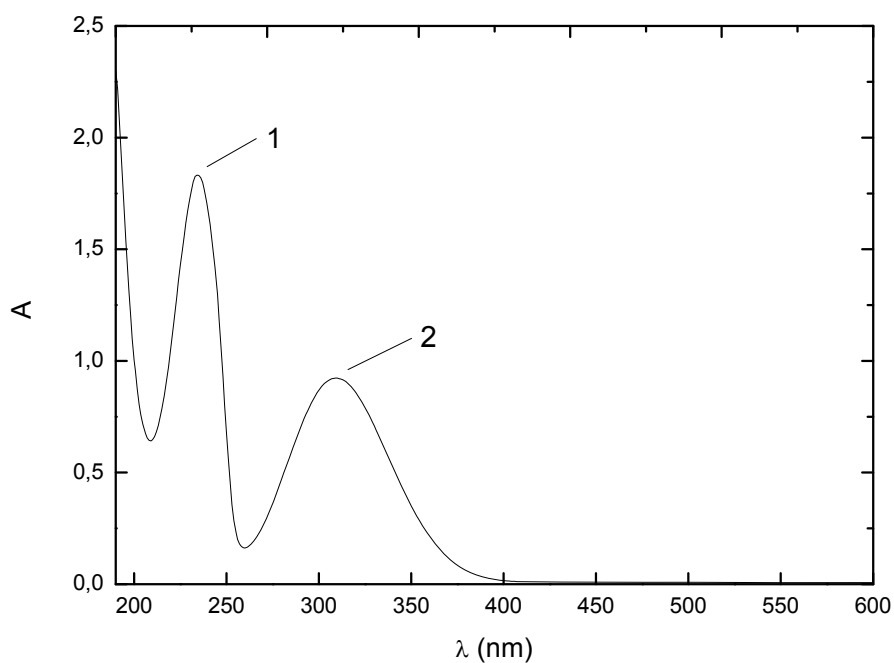
Obr. 1 Zobrazení vyhodnocování píků v DC voltamogramu při stanovení kyseliny pikrové. DC voltamogram kyseliny pikrové ($c=1.10^{-4}$ mol.dm⁻³); měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0; I_p -proud píku, E_p -potenciál píku



Obr. 2 Zobrazení vyhodnocení píků v DP voltamogramu při stanovení kyseliny pikrové. DP voltamogram kyseliny pikrové ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$); měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0; I_p -proud píku, E_p -potenciál píku

2.3.4. Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA

Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) v deionizované vodě bylo prováděno v oblasti UV a viditelného záření při vlnových délkách 190-600 nm. Byla při tom používána křemenná kyveta o tloušťce 1 mm. Jako blank sloužila deionizovaná voda. Na obr. 3 je ukázáno spektrum 5-NBIA. V tab. 2 jsou shrnuta měření absorbance zásobního roztoku v průběhu 78 dní. Z jejich vývoje se dá usoudit, že roztok uchovávaný ve tmě za laboratorní teploty byl po celou dobu měření stálý. Nedocházelo v něm k žádné reakci, při které by se snižovala koncentrace látky. Pro výpočet relativní absorbance byly výsledky vztaženy k prvnímu dni měření stálosti.



Obr. 3 Záznam spektra zásobního roztoku 5-NBIA v deionizované vodě ($c=1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Pík při 234 nm (1), pík při 309 nm (2). Měřeno v křemenné kyvetě, optická dráha 1 mm. Jako blank byla použita deionizovaná voda

Tab. 2 Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) pomocí spektrofotometru. Blank byla deionizovaná voda. Relativní absorbance je vztažena oproti prvnímu dni měření

den	absorbance roztoku při λ		relativní absorbance (%)	
	234 nm	309 nm	234 nm	309 nm
1	1,832	0,923	100,0	100,0
2	1,812	0,911	98,9	98,6
3	1,838	0,926	100,3	100,4
4	1,816	0,908	99,1	98,3
5	1,835	0,916	100,1	99,2
8	1,812	0,904	98,9	97,9
16	1,925	0,965	105,1	104,5
22	1,826	0,920	99,6	99,6
29	1,755	0,859	95,8	93,0
78	1,804	0,892	98,5	96,6

2.3.5. Měření stálosti zásobního roztoku kyseliny pikrové

Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA ($c=1.10^{-3}$ mol.L⁻¹) v deionizované vodě nebylo prováděno, protože jsou publikovány práce, v kterých je pracováno s vodným zásobním roztokem kyseliny pikrové jakožto se zásobním roztokem stálým v čase [67, 74].

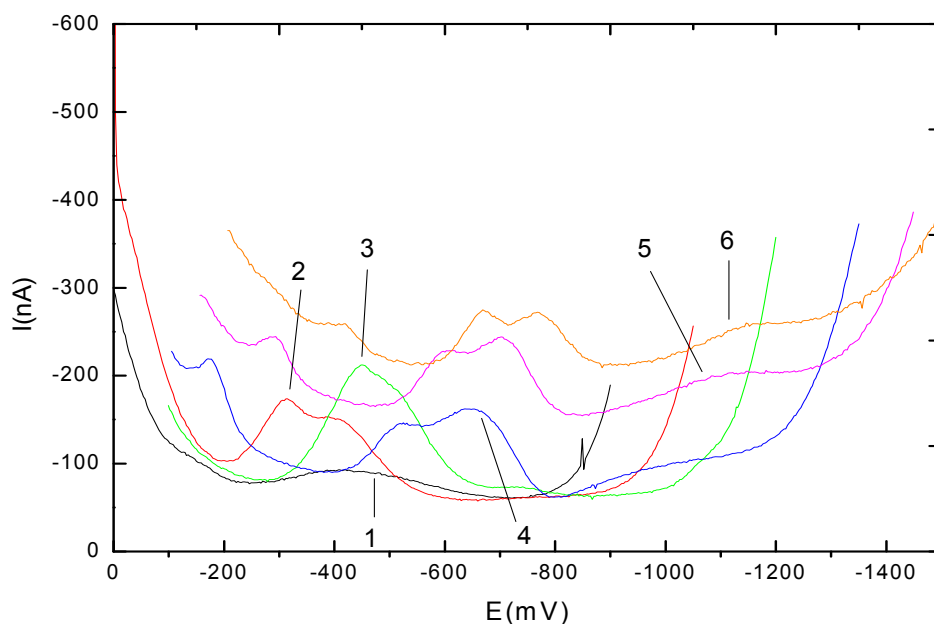
3. Voltametrické stanovení studovaných látek

3.1. Stanovení 5- nitrobenzimidazolu

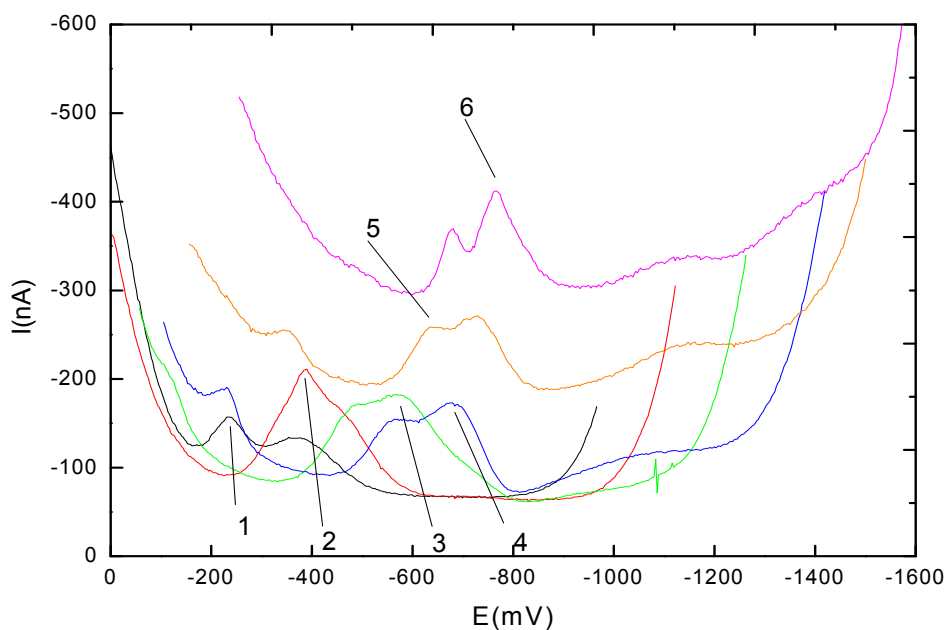
3.1.1. DPV technika

3.1.1.1. Vliv pH

Voltametrické chování 5-NBIA na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru ukazují obr. 4 a obr. 5. Roztoky 5-NBIA měly koncentraci 1.10^{-4} mol.L⁻¹. Na DP voltamogramech se objevoval 1 až 4 píky v závislosti na pH roztoku B-R pufru. Při pH 1,9 se vyskytl jeden pík, při pH 3,0 až 5,0 a pH 7,0 se daly vyhodnotit dva píky. Při pH 6,0 a 13,2 se objevily tři píky a při pH 8,0 až 12,0 poskytlo měření čtyři píky. Ze získaných voltamogramů je vidět, že hlavní pík se v rozsahu pH 3,0 až 13,2 rozpadal na dva nižší píky. Od pH 8,0 do pH 12,0 se před hlavním píkem začíná objevovat ještě jeden pík a při pH 1,9; 6,0 a 8,0 až 13,2 se nachází za hlavním píkem další pík. Tyto píky mohou být způsobeny naadsorbováním produktu redukční reakce 5-NBIA na povrch p-AgSA-CE a jeho dalším zredukováním. Jako vhodné pH prostředí bylo vybráno pH 5,0, přestože při pH 6,0 byla získána větší odezva analytu. Důvodem bylo, že při pH 5,0 byl pík nejlépe vyvinutý.



Obr. 4 Chování 5-NBIA v roztoku B-R pufru o různém pH. DP voltamogramy 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (1) je voltamogramem v prostředí samotné kyselé složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny sudé hodnoty pH B-R pufru 1,9(1); 4,0 (2); 6,0 (3); 8,0 (4); 10,0 (5); 12,0 (6)



Obr. 5 Chování 5-NBIA v roztoku B-R pufru o různém pH. DP voltamogramy 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (6) je voltamogramem samotné zásadité složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny liché hodnoty pH B-R pufru 3,0 (1); 5,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); 11,0 (5); 13,2(6). Křivka (6) je voltamogramem v prostředí samotné zásadité složky B-R pufru

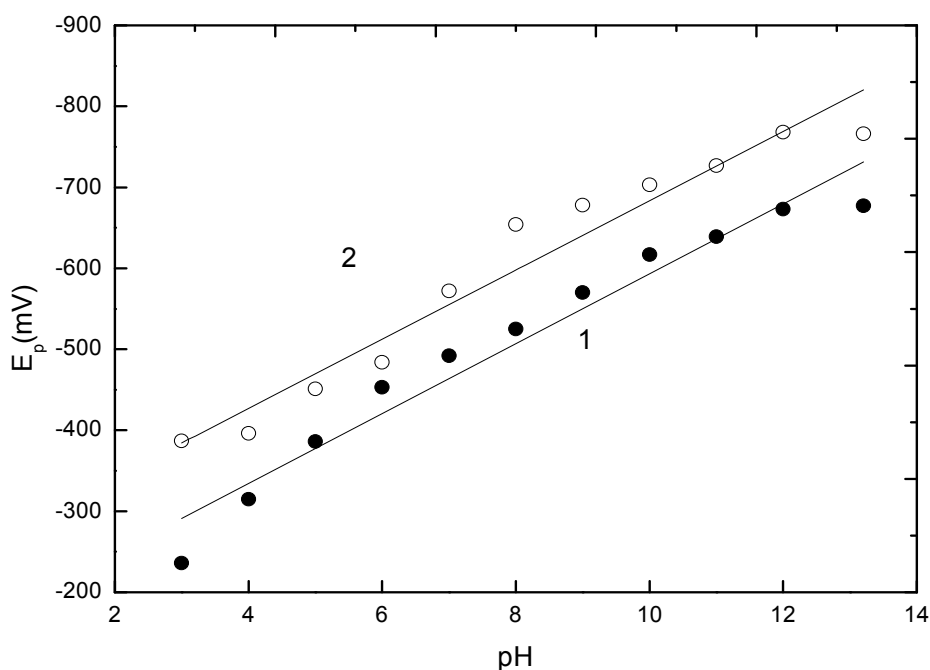
V tab. 3 jsou zaznamenány hodnoty potenciálu píku (E_p) a proudu píku (I_p) všech vyhodnocených píků ve voltamogramu. Obr. 6 zobrazuje závislost E_p na pH pro píky E_p^2 a E_p^3 . Pro závislost E_p na pH byly získány tyto vztahy:

pro potenciál druhého píku 5-NBIA: $E_p^2 = -43,2 \text{ pH} - 161,5$ (R= -0,9752),

pro potenciál třetího píku 5-NBIA: $E_p^3 = -42,7 \text{ pH} - 256,0$ (R= -0,9731).

Tab. 3 Chování 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) při různém pH v prostředí vodného roztoku B-R pufru, měřeno na p-AgSA-CE. Hodnota 1,9 je hodnota pH samotné kyselé složky B-R pufru. Hodnota pH 13,2 je hodnota samotné zásadité složky B-R pufru

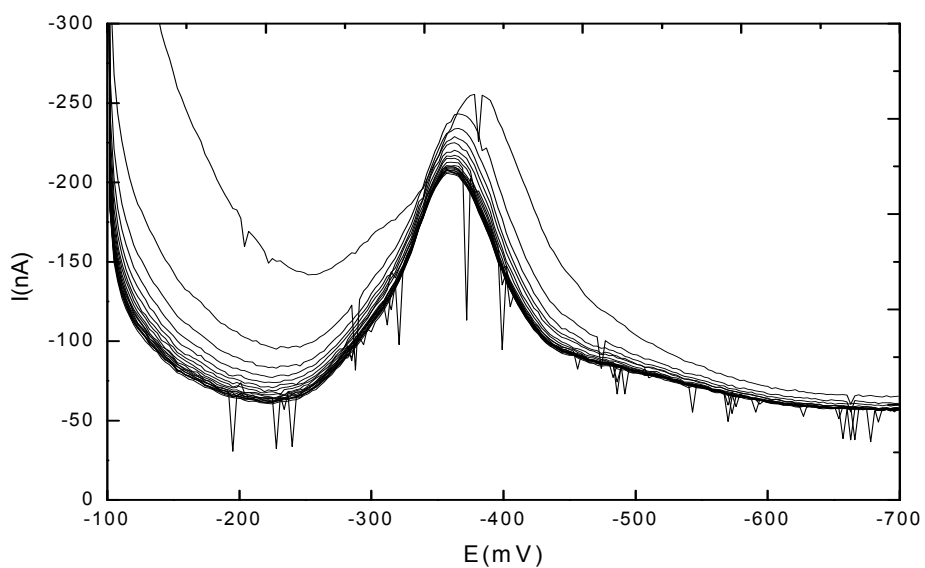
pH	E_p^1 (mV)	I_p^1 (nA)	E_p^2 (mV)	I_p^2 (nA)	E_p^3 (mV)	I_p^3 (nA)	E_p^4 (mV)	I_p^4 (nA)
1,9	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-420	-20
3,0	-----	-----	-236	-38	-387	-38	-----	-----
4,0	-----	-----	-315	-92	-396	-71	-----	-----
5,0	-----	-----	-386	-122	-451	-89	-----	-----
6,0	-----	-----	-453	-133	-484	-122	-733	-6
7,0	-----	-----	-492	-94	-572	-109	-----	-----
8,0	-175	-47	-525	-66	-654	-90	-962	-7
9,0	-230	-36	-570	-66	-678	-93	-1021	-31
10,0	-295	-33	-617	-67	-703	-85	-1085	-15
11,0	-350	-23	-639	-66	-727	-81	-1124	-18
12,0	-417	-15	-673	-57	-768	-58	-1146	-14
13,2	-----	-----	-677	-72	-766	-110	-1121	-14



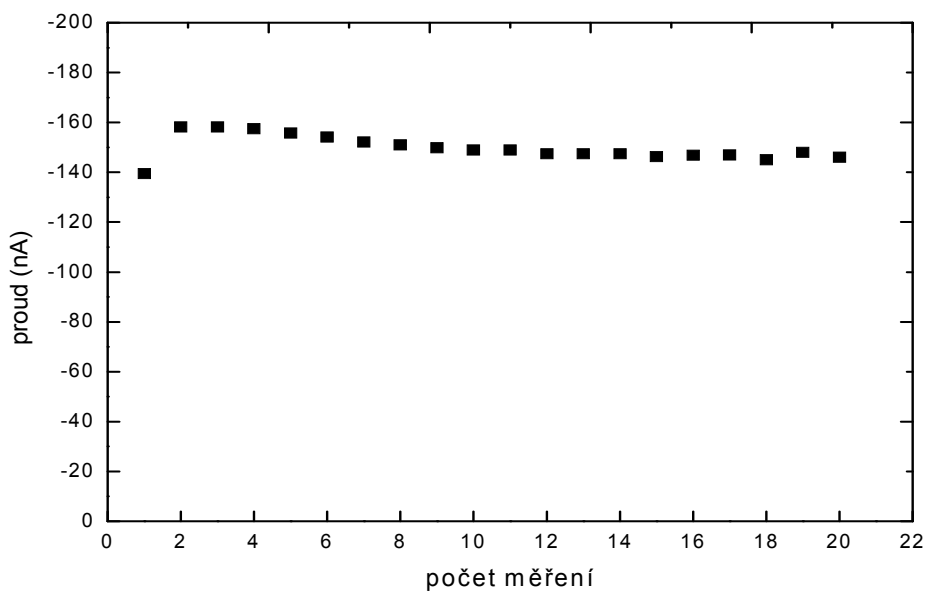
Obr. 6 Závislost E_p 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) na pH. Měřeno pomocí DPV ve vodných roztocích B-R pufru na p-AgSA-CE. pH 13,2 je pH samotné zásadité složky B-R pufru. Křivka (1) je závislostí E_p na pH pro 2.pík (E_p^2), křivka (2) je závislostí E_p na pH pro 3.pík (E_p^3)

3.1.1.2. Vliv regeneračních potenciálů

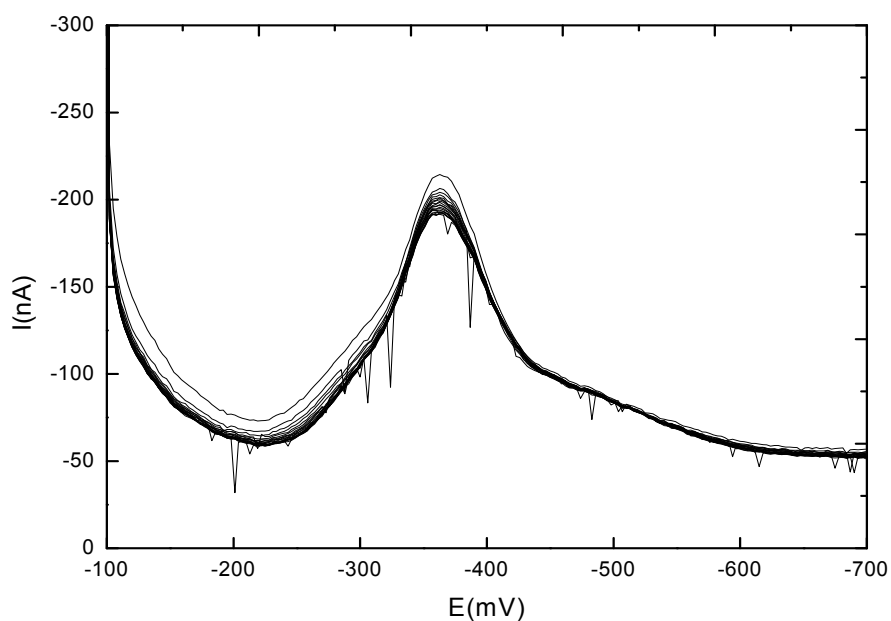
Na obr. 7 a obr. 9 je z DP voltamogramů 5-NBIA za zvolených optimálních podmínek vidět vliv nevkládání a vkládání regeneračních potenciálů na pracovní elektrodu před každým měřením. Obr. 8 a obr. 10 znázorňuje závislost velikosti proudu na počtu měření. Pokud regenerační potenciály nebyly vkládány, pracovní elektroda se rychle pasivovala a velikost odezvy zpočátku klesala, zároveň se s tím zmenšovala ale i velikost šumu. Odezva se ustálila přibližně po 10 měřeních. Pro velikost odezvy byla pro 20 měření vypočtena relativní směrodatná odchylka 3,26 %. Při vkládání regeneračních potenciálů ($E_{reg1}= 0$ mV, $E_{reg2}= -1150$ mV) na pracovní elektrodu před každým měřením byl pokles velikosti odezvy menší. Rozpětí hodnot velikosti odezvy bylo nižší než v případě bez vkládání regeneračních potenciálů, odezva byla stabilnější a ustálila se okamžitě po prvním měření. Relativní směrodatná odchylka hodnot velikosti odezvy poklesla na 2,25 %. Při vkládání regeneračních potenciálů byla průměrná hodnota odezvy nižší než při jejich nevkládání, ale z důvodů vyšší opakovatelnosti a lepší stability odezvy byl při všech měřeních regenerační krok zařazen.



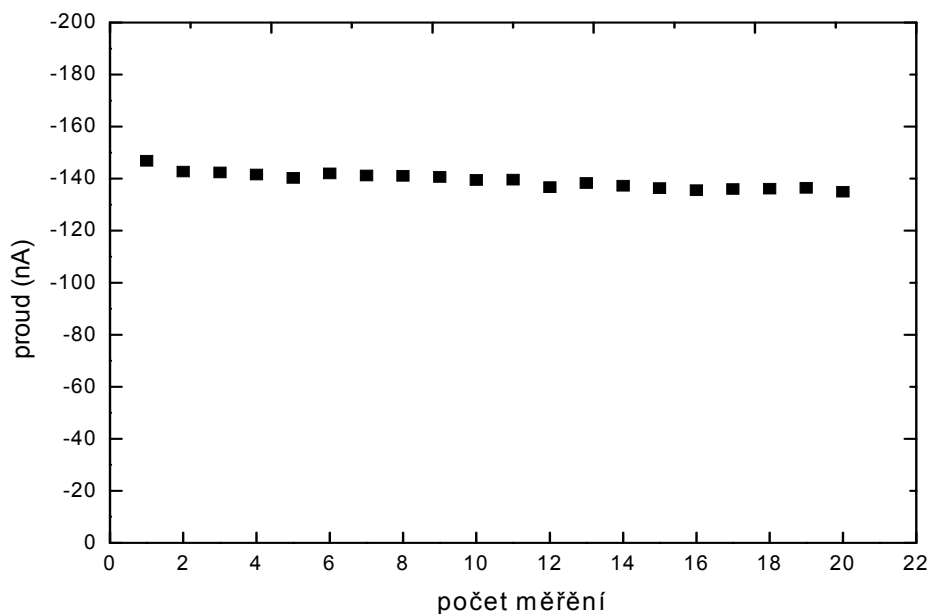
Obr. 7 DP voltamogramy závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro 5-NBIA ($c=1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 5,0; $n = 20$



Obr. 8 Graf závislosti I_p na počtu měření pro 5-NBIA ($c=1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 5,0 technikou DPV

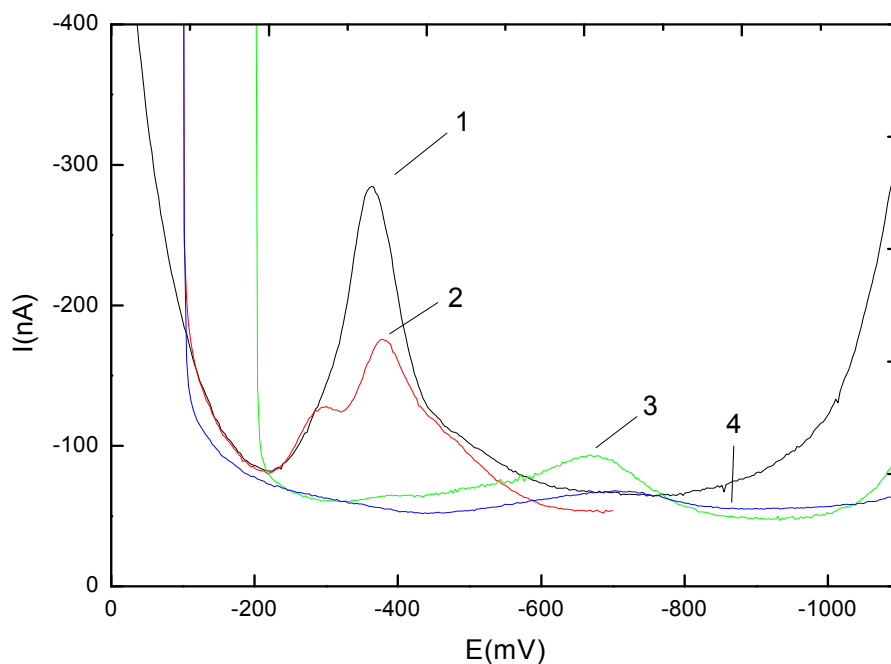


Obr. 9 DP voltamogramy závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy byly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 0$ mV, $E_{reg2}= -1150$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 5,0; n = 20

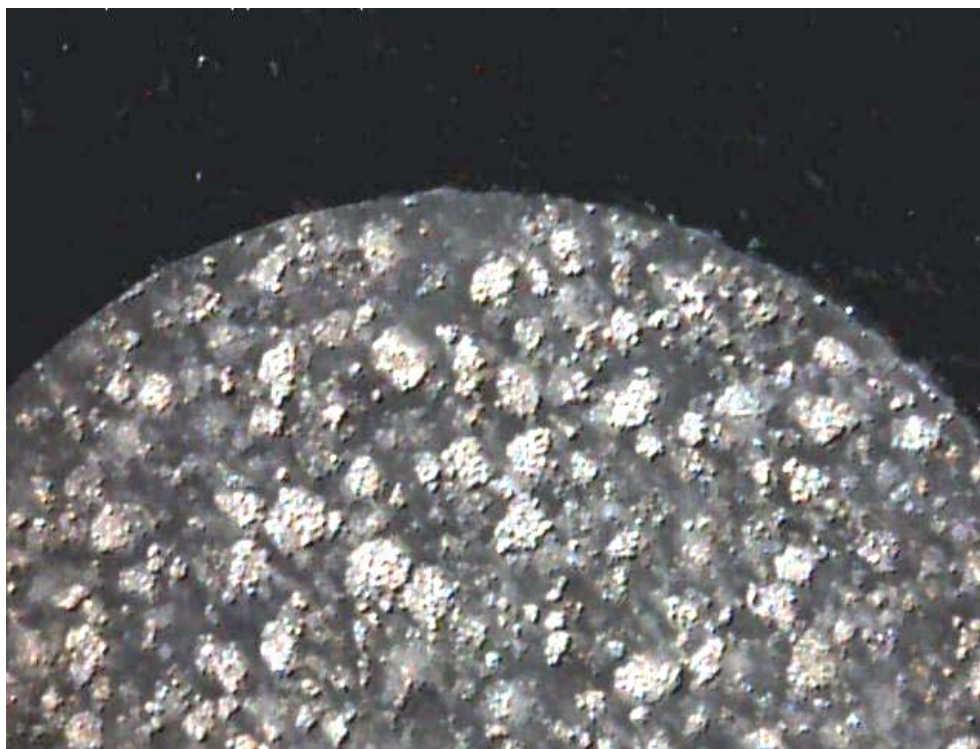


Obr. 10 Graf závislosti I_p na počtu měření pro 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy byly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 0$ mV, $E_{reg2}= -1150$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 5,0 technikou DPV

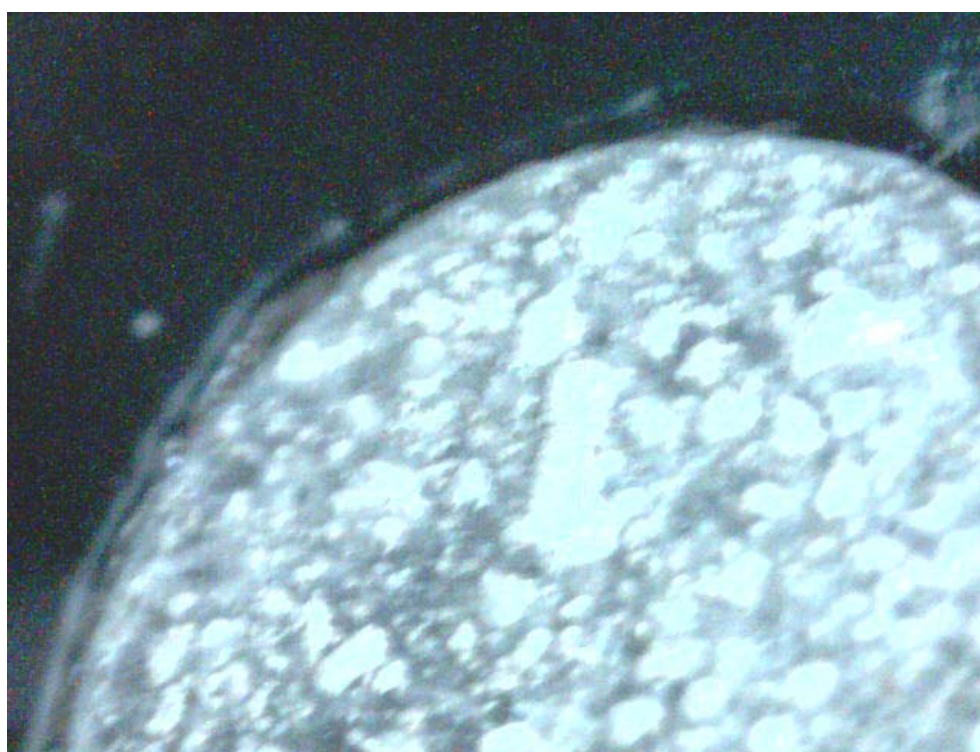
Při měření roztoku 5-NBIA se s časem velikost odezvy zmenšovala a kvalita píku zhoršovala, jak ukazuje obr. 11. Každá křivka představuje jeden den měření. Na začátku každého dne, kdy se s elektrodou měřilo, byla provedena předúprava elektrody. Elektroda byla leštěna na sametu s použitím aluminu a aktivována v $0,2\text{mol.L}^{-1}$ roztoku KCl. Mezi jednotlivými měřeními byly vkládány regenerační potenciály. Nejprve se pík rozpadl na dvě části a při dalších měřeních se posunul jeho potenciál k zápornějším hodnotám. Pro obnovení původních měřících schopností elektrody byla ještě vyzkoušena aktivace v $0,2\text{mol.L}^{-1}$ roztoku NaOH a $0,2\text{mol.L}^{-1}$ roztoku HCl. Za účelem obnovení povrchu elektrody bylo provedeno hrubší mechanické čištění pomocí smirkového papíru. Po žádném z těchto postupů nebylo dosaženo původní kvality a výšky odezvy. Nejpravděpodobnější příčinou zhoršených schopností elektrody je tvorba komplexů na povrchu elektrody mezi stříbrným amalgámem a dusíkovým heteroatomem na imidazolové části molekuly 5-NBIA, čímž se obsazují aktivní místa na povrchu elektrody. S tvorbou komplexu může souviset i ubývání elektrodového materiálu, které je vidět při porovnání obr. 12 a obr. 13 a které mohlo ovlivnit kvalitu odezvy. Z výše uvedených důvodů nebylo pro 5-NBIA možno proměřit kalibrační závislost 5-NBIA.



Obr. 11 Vývoj odezvy pracovní elektrody na stanovovaný 5-NBIA ($c=1.10^{-4}\text{ mol.L}^{-1}$) v čase. Měření ze dne 4.1.2010 (1), měření ze dne 11.1.2010 (2), měření ze dne 23.2.2010 (3), měření ze dne 24.2.2010 (4). Měřeno v roztoku B-R pufru o pH 5,0 na p-AgSA-CE technikou DPV



Obr. 12 Detail povrchu p-AgSA-CE před měřením 5-NBIA. Stav ze dne 27.2.2009



Obr. 13 Detail povrchu p-AgSA-CE po měření 5-NBIA a pozorovatelný pokles kompozitní části elektrody pod úroveň skleněného těla. Stav ke 4.3.2010

3.1.2. DCV technika

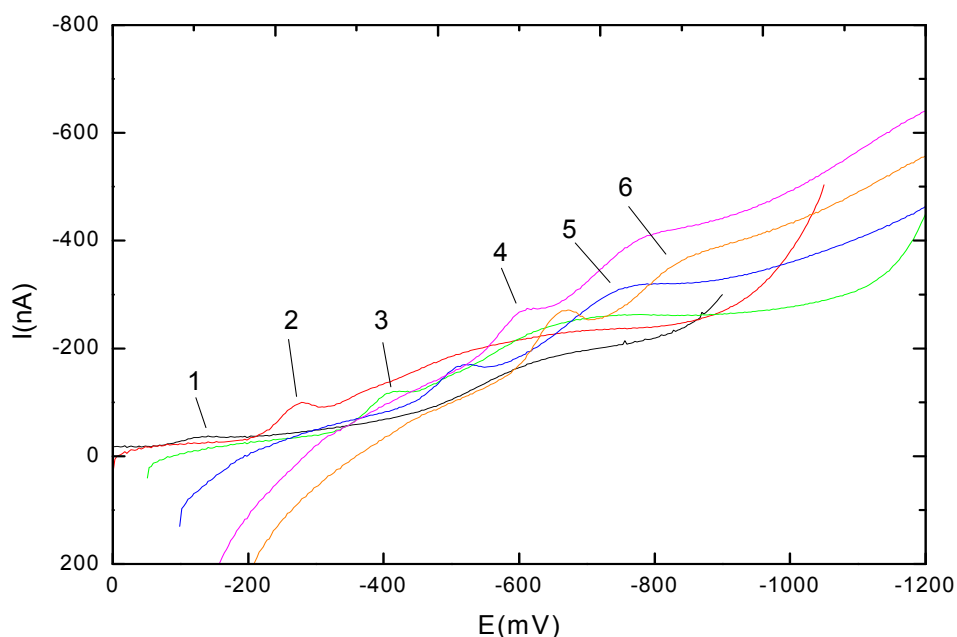
3.1.2.1. Vliv pH

Chování 5-NBIA v roztoku B-R pufru o různém pH ukazují obr. 14 a obr. 15. Roztoky 5-NBIA měly koncentraci $1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Měření byla prováděna na p-AgSA-CE, přičemž 5-NBIA poskytoval dva píky v rozsahu pH 1,9-12,0. Druhý pík měl často tvar podobný polarografické vlně. Při pH 13,2, což je pH samotné zásadité složky B-R pufru, bylo možno vyhodnotit pouze jeden pík. Hodnoty E_p a I_p jsou shrnuty v tab. 4. Závislost potenciálu píku 5-NBIA na pH roztoku ukazuje obr. 16.

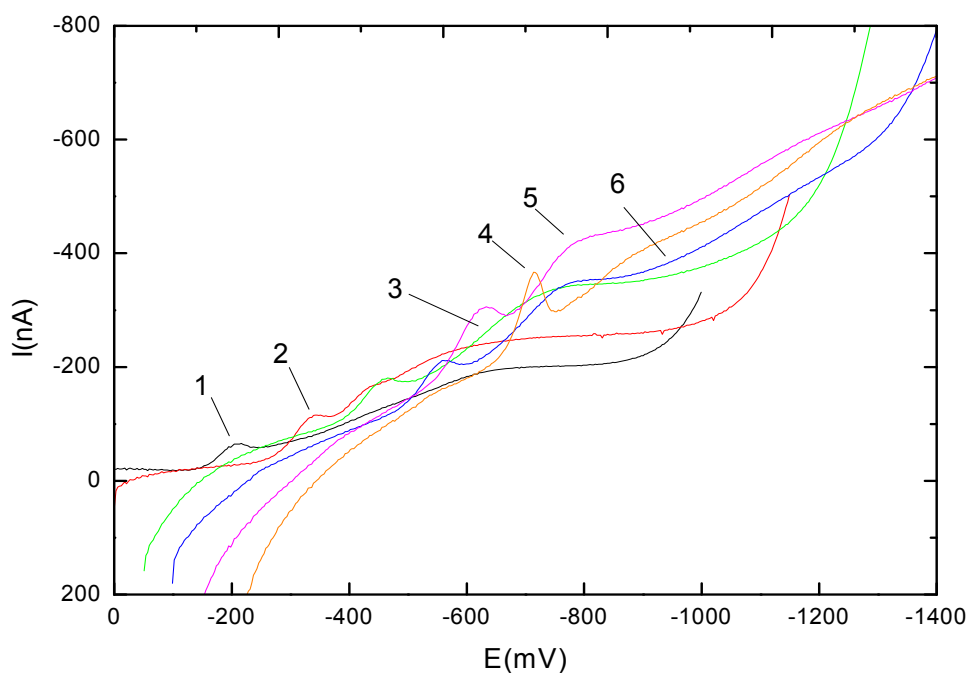
Pro závislost E_p na pH byly získány tyto vztahy:

$$\text{Potenciál prvního píku } E_p^1 = -51,2 \text{ pH} - 80,6 \quad (R = -0,9878)$$

$$\text{Potenciál druhého píku } E_p^2 = -22,2 \text{ pH} - 562,5 \quad (R = -0,9720)$$



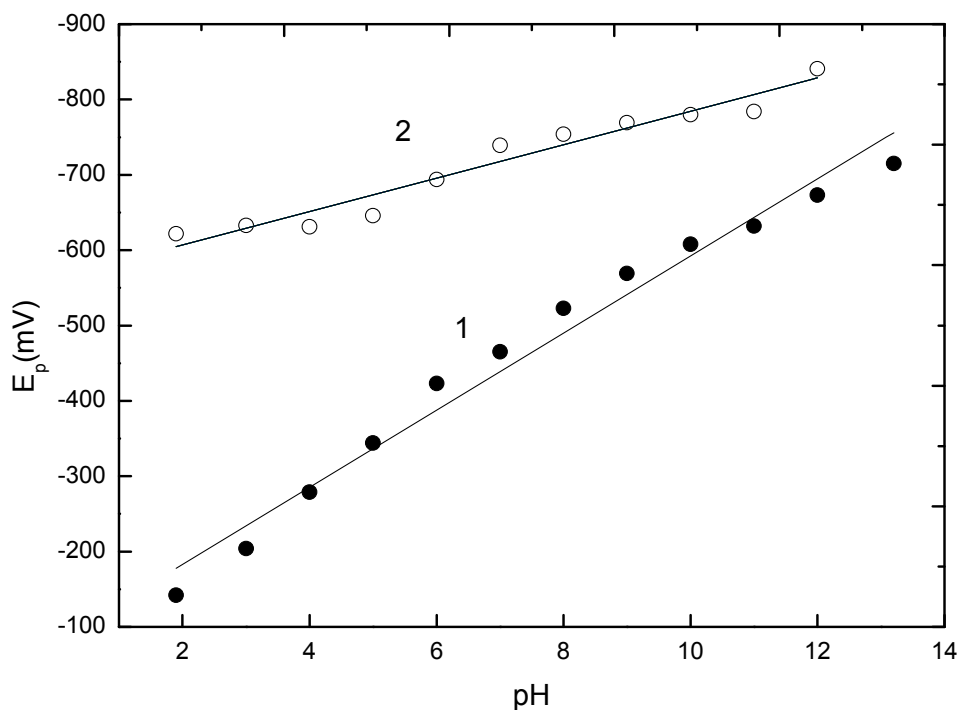
Obr. 14 Chování 5-NBIA v roztoku B-R pufru o různém pH. DC voltamogramy 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (1) je voltamogramem v prostředí samotné kyselé složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny sudé hodnoty pH B-R pufru 1,9 (1); 4,0 (2); 6,0 (3); 8,0 (4); 10,0 (5); 12,0 (6)



Obr. 15 Chování 5-NBIA v roztoku B-R pufru o různém pH. DC voltamogramy 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (6) je voltamogramem v prostředí samotné zásadité složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny liché hodnoty pH B-R pufru 3,0(1); 5,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); 11,0 (5); 13,2 (6)

Tab.4 Chování 5-NBIA ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) při různém pH v prostředí roztoku B-R pufru, měřeno na p-AgSA-CE

pH	$E_p^1(\text{mV})$	$I_p^1(\text{nA})$	$E_p^2(\text{mV})$	$I_p^2(\text{nA})$
1,9	-142	-20	-622	-159
3,0	-204	-47	-633	-176
4,0	-279	-75	-631	-196
5,0	-344	-89	-646	-218
6,0	-423	-81	-694	-215
7,0	-465	-90	-739	-245
8,0	-523	-93	-754	-234
9,0	-569	-104	-769	-241
10,0	-608	-120	-780	-247
11,0	-632	-150	-784	-262
12,0	-673	-147	-841	-227
13,2	-715	-172	----	----



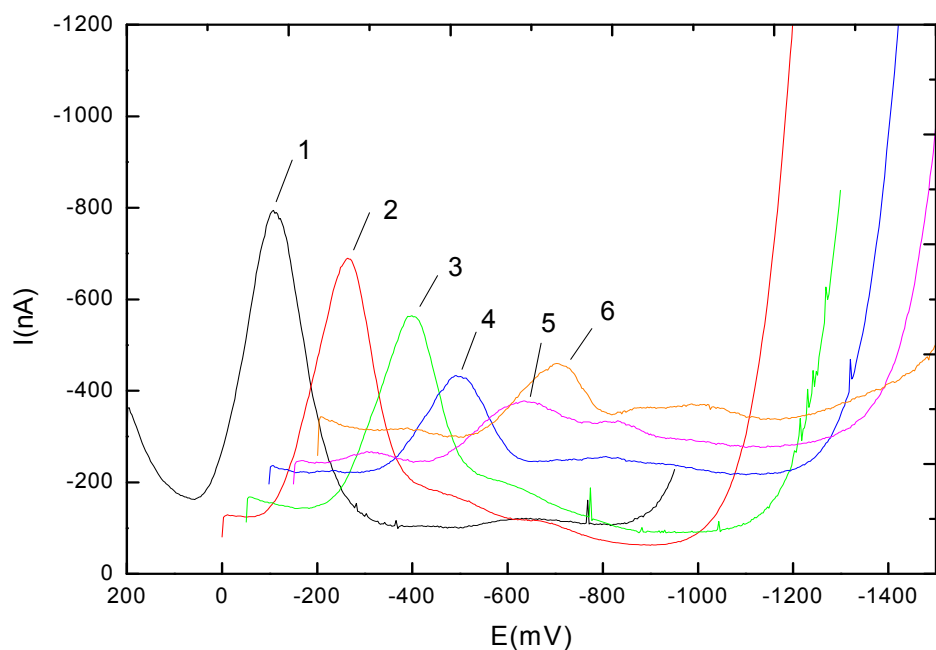
Obr. 16 Závislost E_p 5-NBIA ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) na pH roztoku. Měřeno technikou DCV v prostředí B-R pufru na p-AgSA-CE. pH 1,9 je pH samotné kyselý složky B-R pufru a pH 13,2 je pH samotné zásadité složky. Závislost E_p na pH (1) pro 1. pík, (2) pro 2. pík

3.2. Stanovení kyseliny pikrové

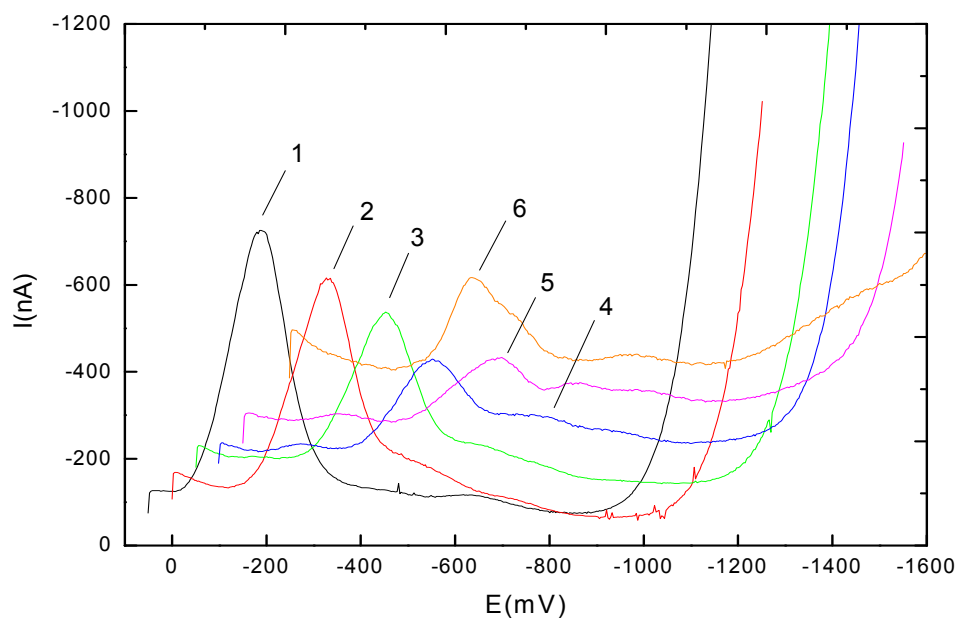
3.2.1. DPV technika

3.2.1.1. Vliv pH

Na obr. 17 a obr. 18 je zobrazen vliv měnícího se pH na odezvu kyseliny pikrové. Závislost na pH byla měřena s roztoky kyseliny pikrové o koncentraci 1.10^{-4} mol.L $^{-1}$ na p-AgSA-CE. Kyselina pikrová poskytuje v celém rozsahu pH jeden velmi dobře vyvinutý pík, který byl vyhodnocován. Od pH 8,0 se na DP voltamogramech objevují navíc jeden až dva píky, které jsou způsobeny přítomností nečistot v základním elektrolytu, nebo se jedná o minoritní odezvy produktů redukční reakce nitro skupiny. Pro stanovení kalibrační závislosti bylo vybráno pH 2,0, kdy bylo dosaženo nejvyšších hodnot proudu píku.



Obr. 17 Chování kyseliny pikrové v roztoku B-R pufru o různém pH. DP voltamogramy kyseliny pikrové ($c=1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny sudé hodnoty pH B-R pufru 2,0 (1); 4,0 (2); 6,0 (3); 8,0 (4); 10,0 (5); 12,0 (6)



Obr. 18 Chování kyseliny pikrové v roztoku B-R pufru o různém pH. DP voltamogramy kyseliny pikrové ($c=1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (6) je voltamogramem samotné zásadité složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny liché hodnoty pH B-R pufru 3,0 (1); 5,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); 11,0 (5); 12,9 (6)

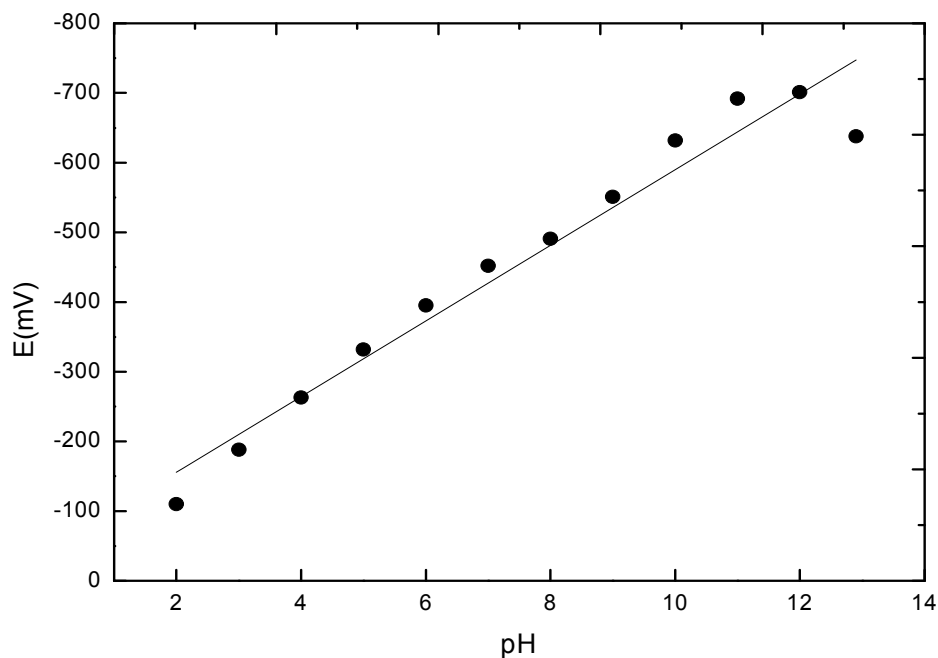
V tab. 5 jsou zobrazeny potenciály (E_p) a proudy (I_p) vyhodnoceného píku pro jednotlivé pH hodnoty. Na obr. 19 je ukázána závislost potenciálu píku (E_p) na pH.

Pro závislost E_p na pH byl získán následující vztah:

$$E_p = -54,3 \text{ pH} - 47,3 \quad (R = -0,9743)$$

Tab. 5 Chování kyseliny pikrové ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) při různém pH v prostředí vodného roztoku B-R pufru, měřeno na p-AgSA-CE technikou DPV. Hodnota 12,9 je hodnota pH samotné zásadité složky B-R pufru

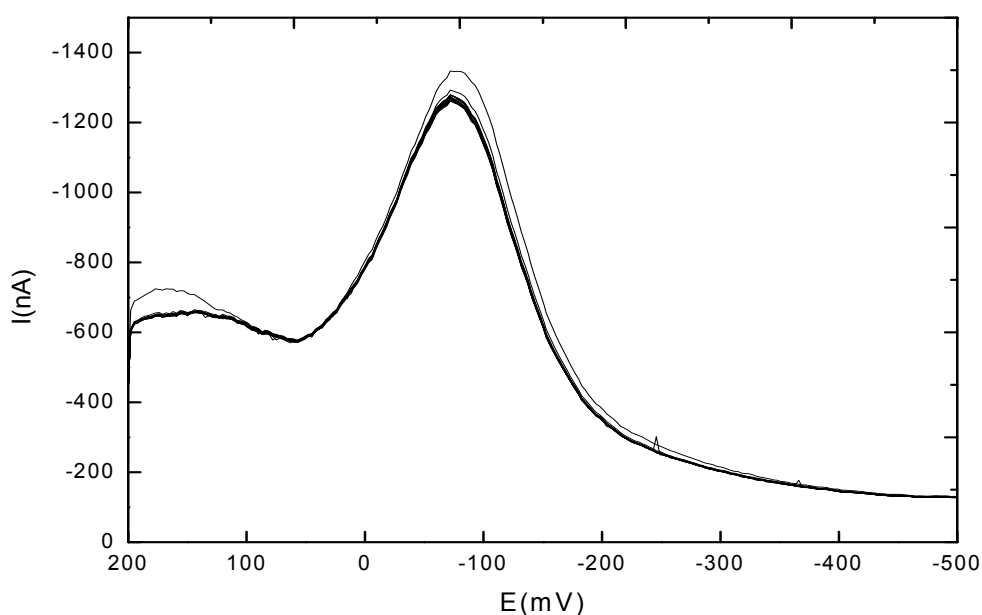
pH	E_p (mV)	I_p (nA)
2,0	-110	-651
3,0	-188	-602
4,0	-263	-578
5,0	-332	-483
6,0	-395	-425
7,0	-452	-326
8,0	-491	-188
9,0	-551	-184
10,0	-632	-121
11,0	-692	-130
12,0	-701	-150
12,9	-638	-209



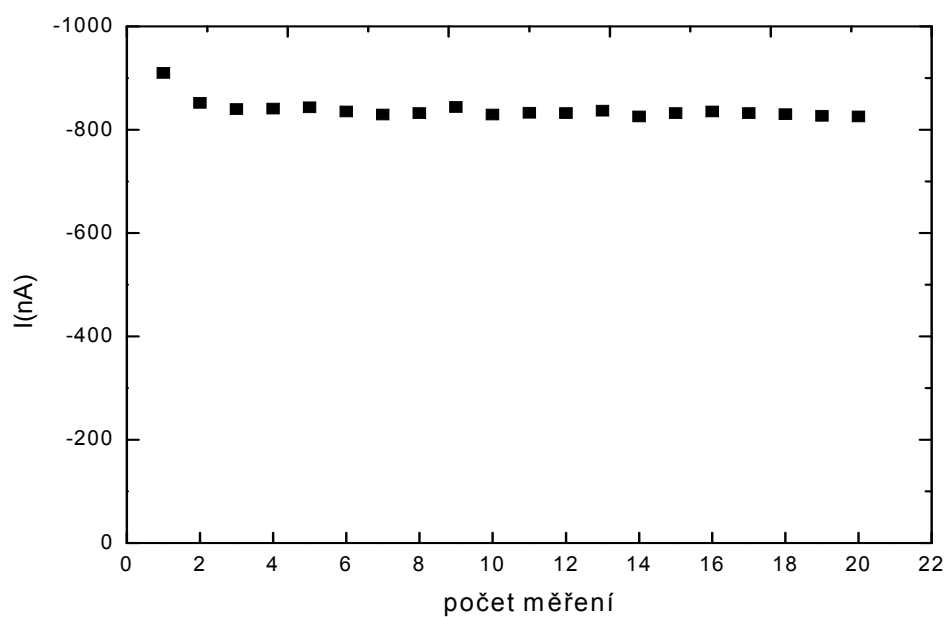
Obr. 19 Závislost E_p kyseliny pikrové ($c = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$) na pH. Měřeno pomocí DPV ve vodných roztocích B-R pufru na p-AgSA-CE. pH 12,9 je pH samotné zásadité složky

3.2.1.2. Vliv regeneračních potenciálů

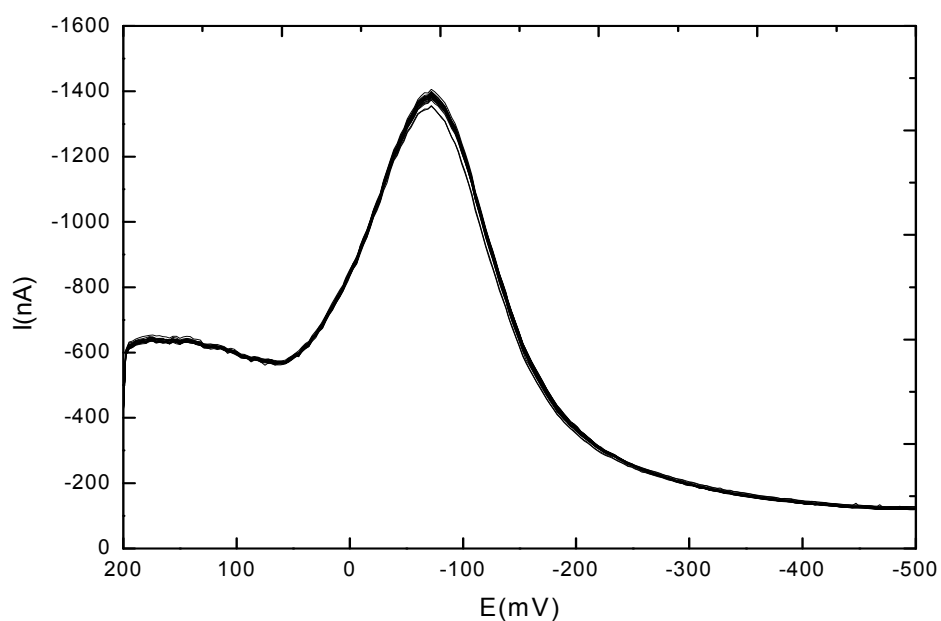
Pro DPV byl prostudován vliv vkládání regeneračních potenciálů na pracovní elektrodu na opakovatelnost měření. Výsledné voltamogramy ukazují obr. 20 a obr. 22. Závislosti velikosti proudu na počtu měření jsou zobrazeny na obr. 21 a obr. 23. Pokud jsme vynechali regenerační krok před každým měřením, byla odezva stabilní od druhého měření a její výška postupně mírně klesala. Při využití regeneračních potenciálů ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV) před každým měřením byla odezva stabilní od prvního měření a výška píku se po celou dobu pohybovala okolo jedné hodnoty. V případě použití regeneračních potenciálů byla výška píku vyšší než bez vkládání regeneračních potenciálů. Po celou dobu měření byl používán tento regenerační krok před každým měřením. Pro měření bez regeneračního kroku byla vypočítána relativní směrodatná odchylka 2,18 %, pro měření s regeneračním krokem 1,35 %. Rozpětí hodnot proudu bylo nižší pro měření s regenerací.



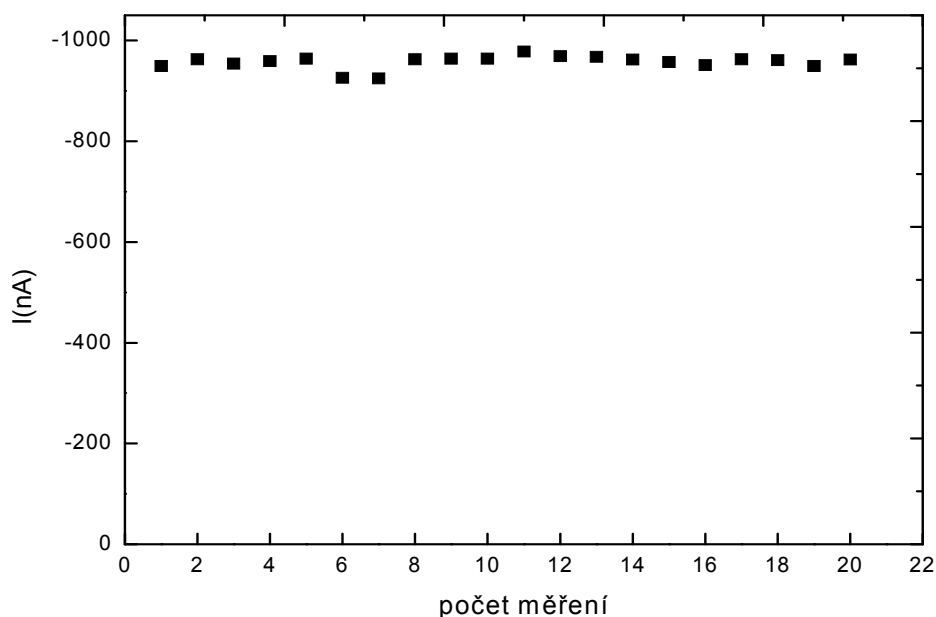
Obr. 20 DP voltamogramy závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro kyselinu pikrovou ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0; n = 20



Obr. 21 Graf závislosti I_p na počtu měření pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0 technikou DPV



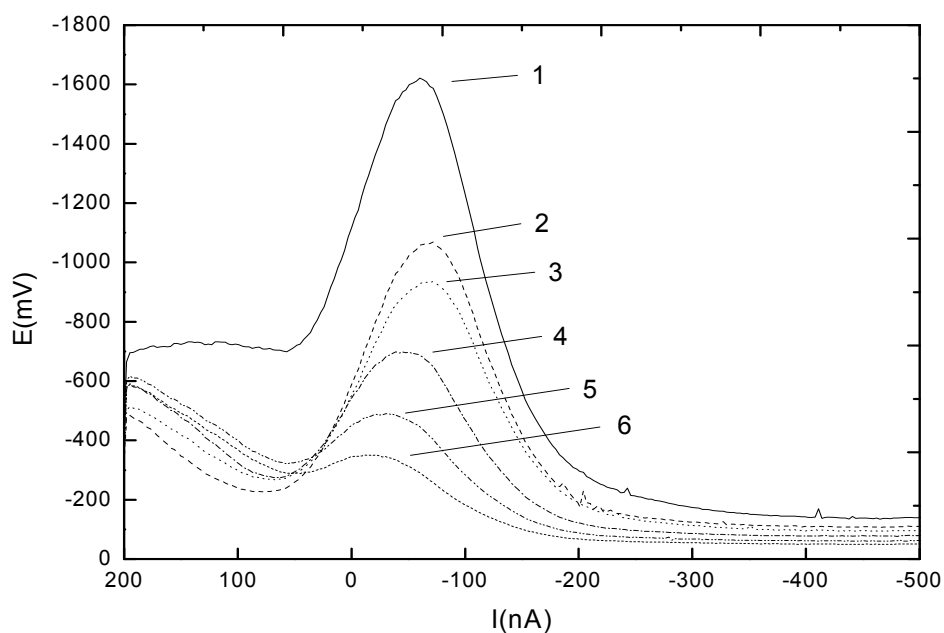
Obr. 22 Voltamogram závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy byly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 200$ mV, $E_{reg2}= -950$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0; n = 20



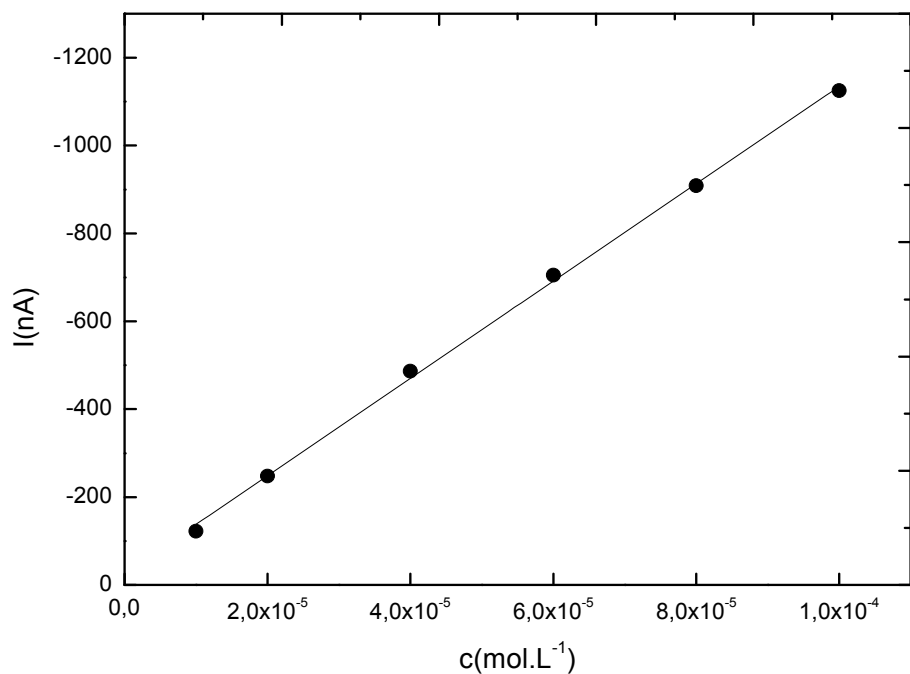
Obr. 23 Graf závislosti I_p na počtu měření pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L⁻¹), kdy byly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 200$ mV, $E_{reg2}= -950$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0 technikou DPV

3.2.1.3. Kalibrační závislost

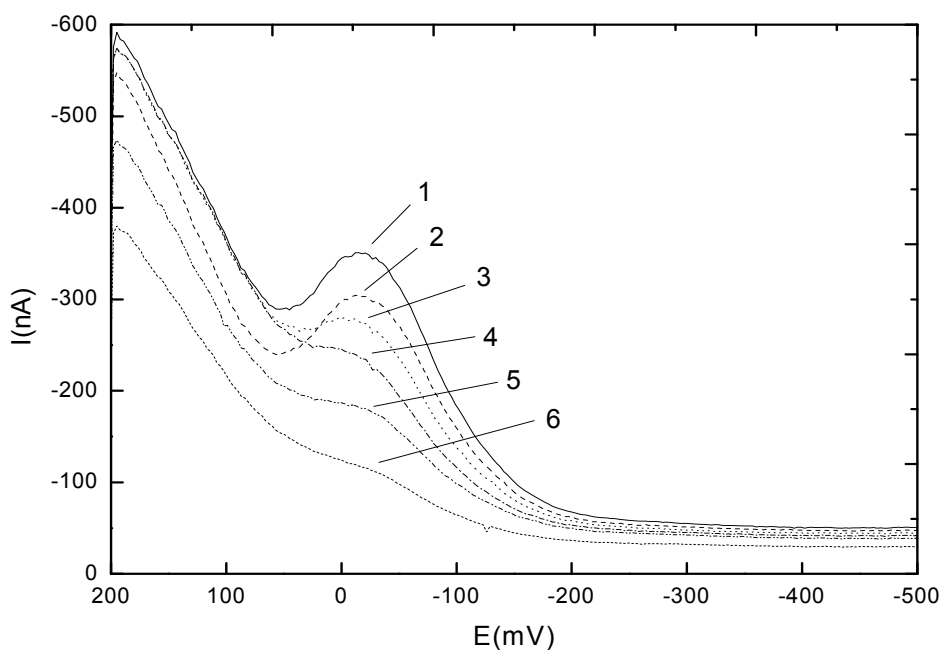
Na obr. 24 a obr. 26 jsou zobrazeny voltamogramy koncentračních závislostí v rozmezí $1.10^{-6} - 1.10^{-4}$ mol.L⁻¹. Měření bylo prováděno na p-AgSA-CE ve vodném roztoku B-R pufru o pH 2,0 při regeneračních potenciálech $E_{reg1}= 200$ mV a $E_{reg2}= -950$ mV. Nejnižší vyhodnotitelnou koncentrací byla 1.10^{-6} mol.L⁻¹. Obr. 25 a obr. 27 ukazují závislost proudu píku (I_p) na koncentraci kyseliny pikrové. Charakteristika kalibračních přímek pro stanovení kyseliny pikrové na p-AgSA-CE v prostředí vodného roztoku pufru o pH 2,0 je shrnuta v tab. 6. V tab. 7 jsou statisticky vyhodnocena měření opakovatelnosti pro nejvyšší stanovovanou koncentrací 1.10^{-4} mol.L⁻¹ a nejnižší stanovitelnou koncentrací 1.10^{-6} mol.L⁻¹.



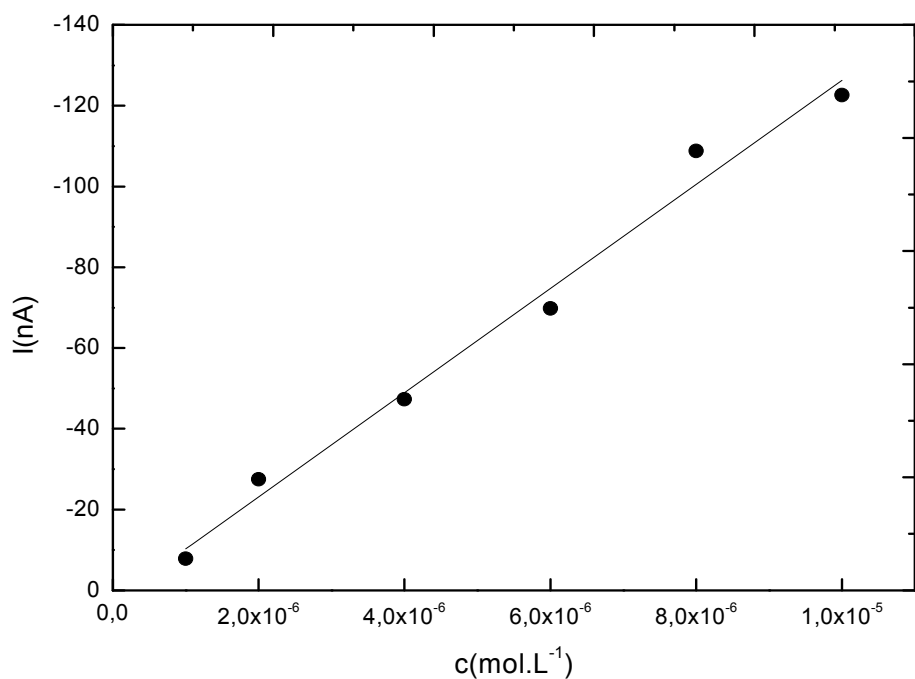
Obr. 24 DP voltamogram kyseliny pikrové v rozmezí 1.10^{-5} - 1.10^{-4} mol.L⁻¹. Koncentrace kyseliny pikrové: 1.10^{-4} mol.L⁻¹ (1); 8.10^{-5} mol.L⁻¹ (2); 6.10^{-5} mol.L⁻¹ (3); 4.10^{-5} mol.L⁻¹ (4); 2.10^{-5} mol.L⁻¹ (5); 1.10^{-5} mol.L⁻¹ (6). Měřeno na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV)



Obr. 25 Závislost proudu píku na koncentraci v rozsahu 1.10^{-5} - 1.10^{-4} mol.L⁻¹. Měřeno na p-AgSA-CE pomocí DPV v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV)



Obr. 26 DP voltamogram kyseliny pikrové v rozmezí 1.10^{-6} - 1.10^{-5} mol.L⁻¹. Koncentrace kyseliny pikrové: 1.10^{-5} mol.L⁻¹(1); 8.10^{-6} mol.L⁻¹(2); 6.10^{-6} mol.L⁻¹(3); 4.10^{-6} mol.L⁻¹(4); 2.10^{-6} mol.L⁻¹(5); 1.10^{-6} mol.L⁻¹(6). Měřeno na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály (E_{reg1} = 200 mV, E_{reg2} = -950 mV)



Obr. 27 Závislost proudu píku na koncentraci v rozsahu 1.10^{-6} - 1.10^{-5} mol.L⁻¹. Měřeno na p-AgSA-CE pomocí DPV v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály (E_{reg1} = 200 mV, E_{reg2} = -950 mV)

Tab. 6 Charakteristika kalibračních přímk stanovění kyseliny pikrové technikou DPV ve vodném roztoku B-R pufru o pH 5,0 na p-AgSA-CE

C (mol.L ⁻¹)	směrnice (mA.L.mol ⁻¹)	úsek (nA)	R	L_Q (mol.L ⁻¹)
$1.10^{-5} - 1.10^{-4}$	-11,1	-27	-0,9993	
$1.10^{-6} - 1.10^{-5}$	-12,9	2,6	-0,9918	$2,5.10^{-7}$

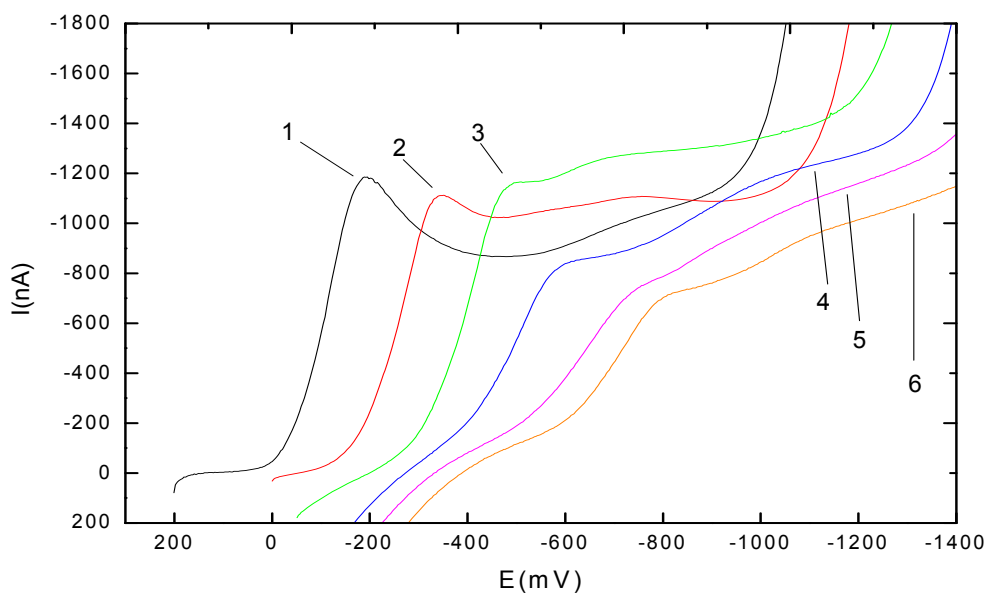
Tab. 7 Statistické vyhodnocení opakovatelnosti měření kyseliny pikrové pomocí DPV na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0 při koncentraci 1.10^{-4} mol.L⁻¹ a 1.10^{-6} mol.L⁻¹ ($n=10$, $\alpha=0,05$)

c (mol.L ⁻¹)	\tilde{x} (nA)	r (nA)	s (nA)	s_r (%)
1.10^{-4}	-962	58	13	1,35
1.10^{-6}	-8,4	2,6	0,59	6,99

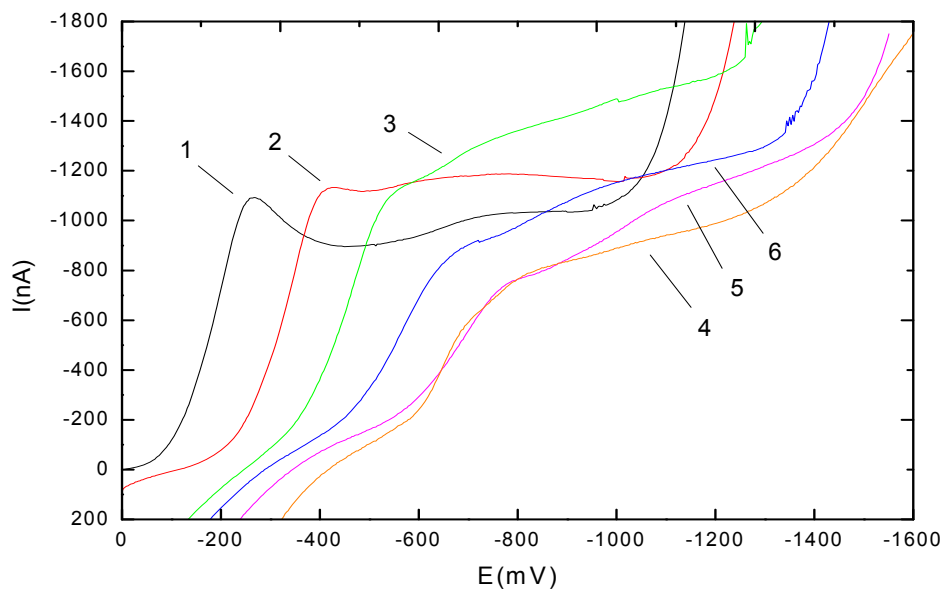
3.2.2. DCV technika

3.2.2.1. Vliv pH

Závislost výšky odezvy kyseliny pikrové na pH je ukázána na obr. 28 pro sudé hodnoty pH a obr. 29 pro liché hodnoty pH použitého B-R pufru. Měření probíhalo v roztoku kyseliny pikrové o koncentraci 1.10^{-4} mol.L⁻¹ na p-AgSA-CE. V celém rozsahu pH se objevoval jeden pík, který byl vyhodnocován. V tab. 8 jsou zobrazeny hodnoty potenciálu (E_p) a proudu (I_p) píku kyseliny pikrové v závislosti na pH. Pro další práci bylo vybráno pH 2,0, při kterém látka poskytovala největší odezvu.



Obr. 28 Chování kyseliny pikrové v roztoku B-R pufru o různém pH. DC voltamogramy kyseliny pikrové ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny sudé hodnoty pH B-R pufru 2,0 (1); 4,0 (2); 6,0 (3); 8,0 (4); 10,0 (5); 12,0 (6)



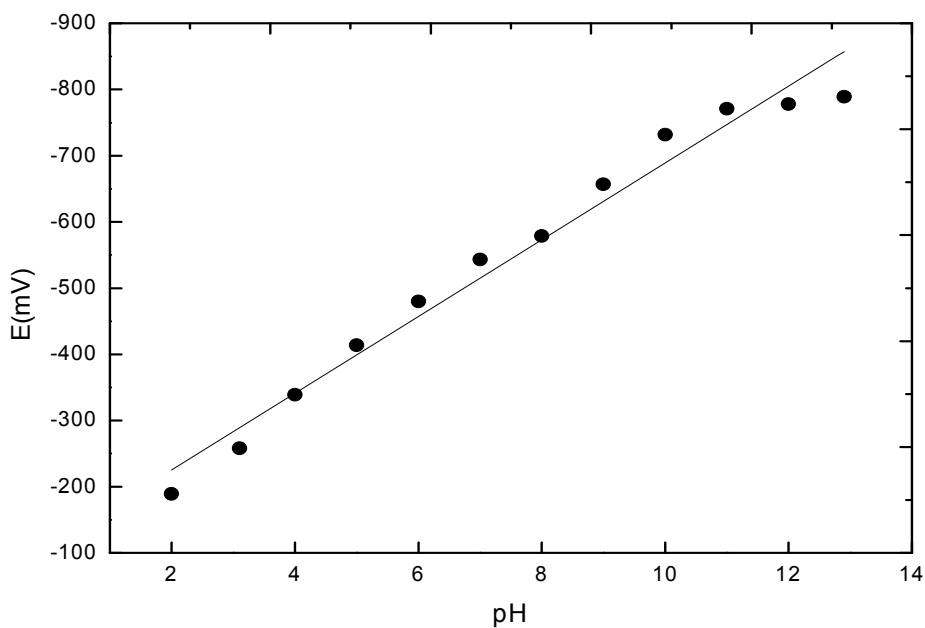
Obr. 29 Chování kyseliny pikrové v roztoku B-R pufru o různém pH. DC voltamogramy kyseliny pikrové ($c=1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) v prostředí B-R pufru. Křivka (6) je voltamogramem v prostředí samotné zásadité složky B-R pufru. Měřeno na p-AgSA-CE. Zobrazeny liché hodnoty pH B-R pufru 3,0 (1); 5,0 (2); 7,0 (3); 9,0 (4); 11,0 (5); 12,9 (6)

Tab. 8 Chování kyseliny pikrové ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) při různém pH v prostředí vodného roztoku B-R pufru, měřeno na p-AgSA-CE technikou DCV. Hodnota 12,9 je hodnota pH samotné zásadité složky B-R pufru

pH	E_p (mV)	I_p (nA)
2,0	-189	-908
3,0	-258	-828
4,0	-339	-800
5,0	-414	-769
6,0	-480	-712
7,0	-543	-613
8,0	-579	-506
9,0	-657	-464
10,0	-732	-324
11,0	-771	-336
12,0	-778	-377
12,9	-789	-306

Závislost potenciálu píku (E_p) na pH ukazuje obr. 30. Pro tuto závislost byl nalezen vztah

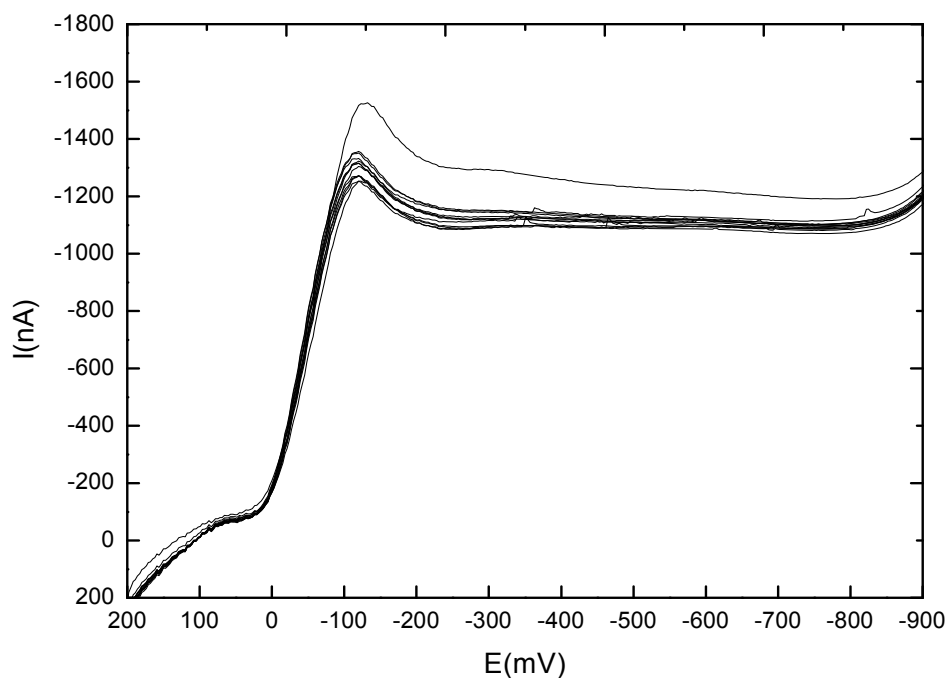
$$E_p = -58,0 \text{ pH} - 109,2 \quad (R=-0,9859)$$



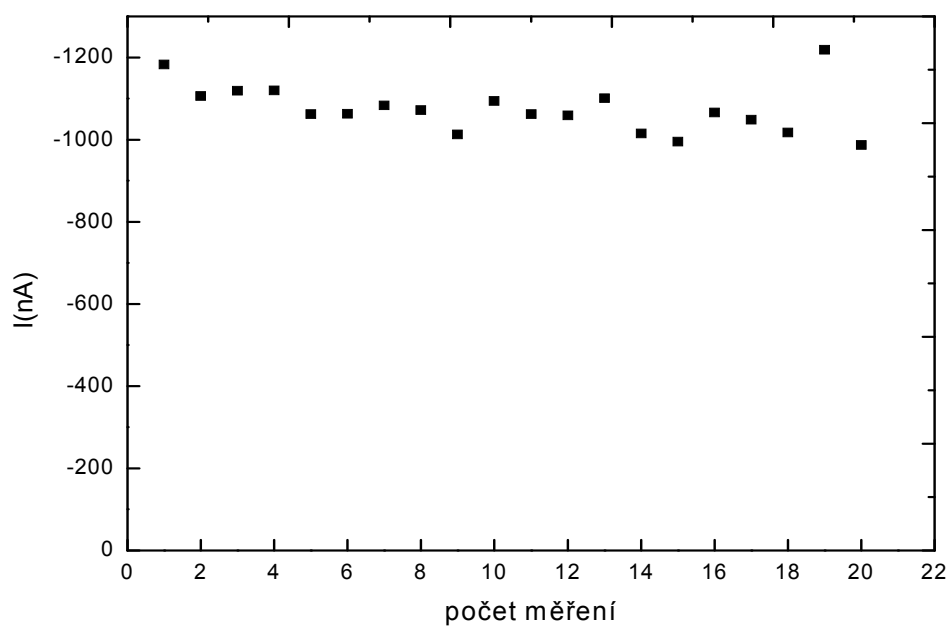
Obr. 30 Závislost E_p kyseliny pikrové ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$) na pH. Měřeno pomocí DCV ve vodných roztocích B-R pufru na p-AgSA-CE. pH 12,9 je pH samotné zásadité složky

3.2.2.2. Vliv regeneračních potenciálů

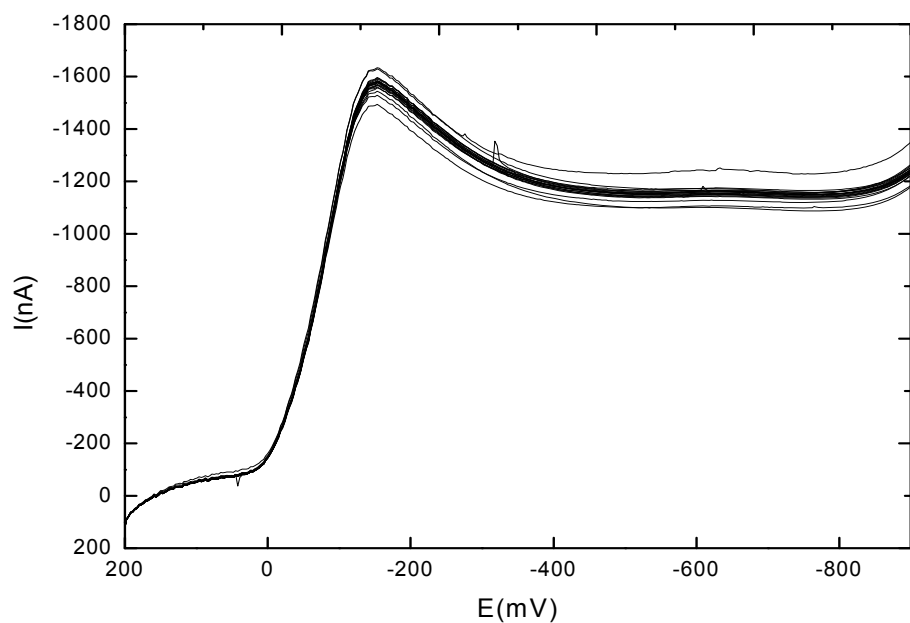
Vliv regeneračního kroku před každým měřením byl zjišťován pro techniku DCV. Výsledky jsou zobrazeny na voltamogramech na obr. 31, kde regenerační krok nebyl použit a na obr. 33, kde byl regenerační krok zařazen ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV). Závislost I_p na počtu měření ukazují obr. 32 pro nevkládání regeneračních potenciálů a obr. 34 při vkládání regeneračních potenciálů. Pokud regenerační potenciály nebyly vkládány, byla odezva studované látky velmi nestálá, po zařazení regeneračního kroku před každé měření se velmi výrazně ustálila. Rozpětí hodnot proudu se po zařazení regeneračního kroku dvakrát zmenšilo. Odezva kyseliny pikrové byla při vkládání regeneračních potenciálů vyšší než při jejich nevkládání. Relativní směrodatná odchylka měření bez vkládání regeneračních potenciálů činila 5,49 %, při jejich vkládání klesla na 1,97 %. Vkládání regeneračních potenciálů v tomto případě značně ovlivnilo opakovatelnost měření.



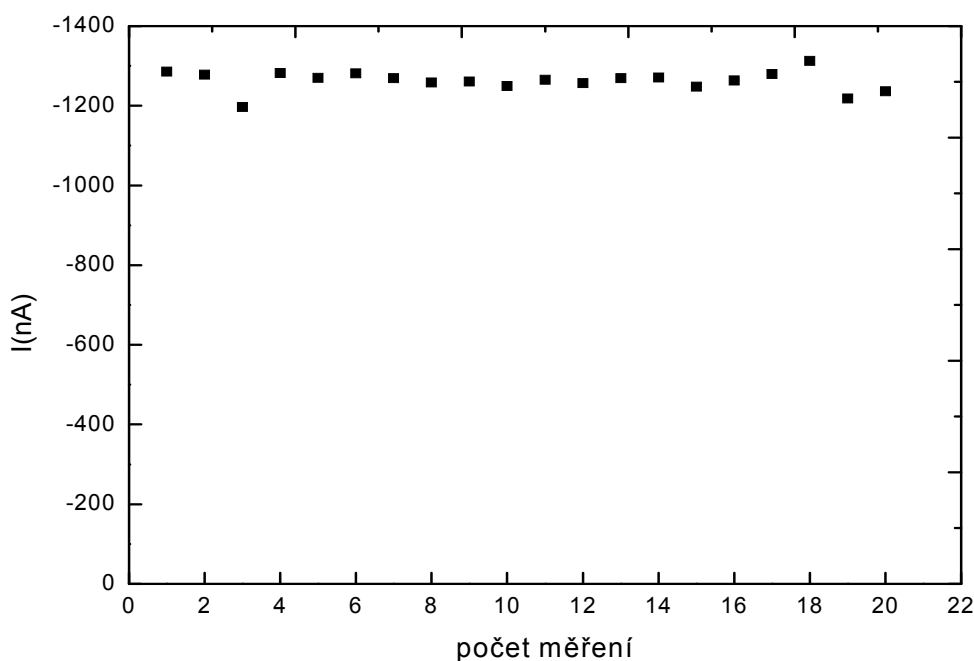
Obr. 31 DC voltamogramy závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro kyselinu pikrovou ($c=1 \cdot 10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0



Obr. 32 Graf závislosti I_p na počtu měření pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály. Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0 technikou DCV



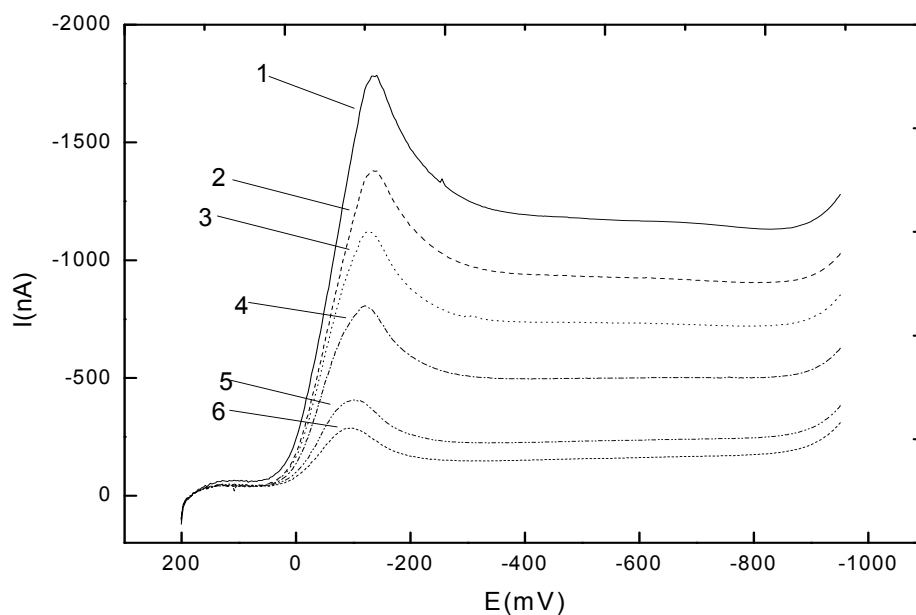
Obr. 33 Voltamogram závislosti velikosti proudu píku I_p na potenciálu E_p pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L $^{-1}$), kdy byly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 200$ mV, $E_{reg2}= -950$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2 technikou DCV



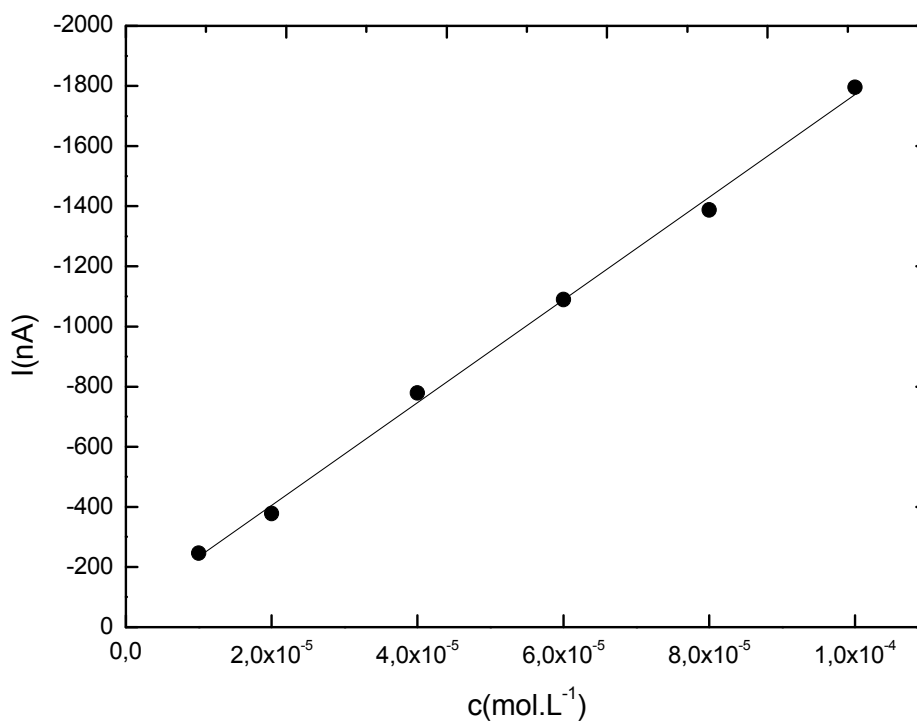
Obr. 34 Graf závislosti I_p na počtu měření pro kyselinu pikrovou ($c=1.10^{-4}$ mol.L⁻¹), kdy nebyly na pracovní elektrodu před každým měřením vkládány regenerační potenciály ($E_{reg1}= 200$ mV, $E_{reg2}= -950$ mV). Měřeno na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2 technikou DCV

3.2.2.3. Kalibrační závislost

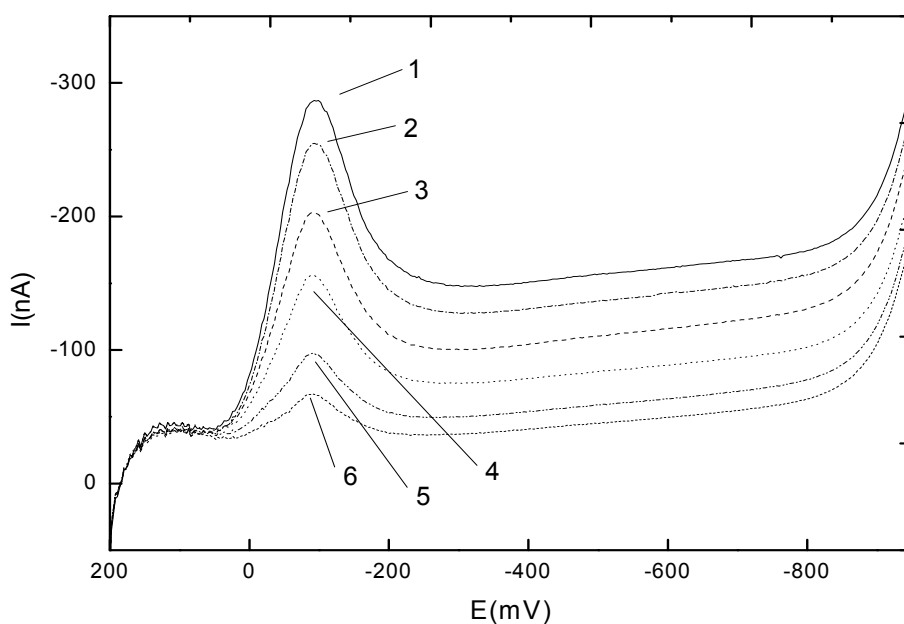
Voltamogramy kalibračních závislostí v rozmezí $1.10^{-7} - 1.10^{-4}$ mol.L⁻¹ jsou ukázány na obr. 35, obr. 37 a obr. 39. Měření bylo prováděno na p-AgSA-CE ve vodném roztoku B-R pufru o pH 2 při regeneračních potenciálech $E_{reg1}= 200$ mV a $E_{reg2}= -950$ mV. Nejnižší vyhodnotitelnou koncentrací byla 1.10^{-7} mol.L⁻¹. Závislosti velikosti proudu píku na koncentraci kyseliny pikrové jsou zobrazeny na obr. 36 pro rozmezí $1.10^{-5} - 1.10^{-4}$ mol.L⁻¹, obr. 38 pro rozmezí $1.10^{-6} - 1.10^{-5}$ mol.L⁻¹ a obr. 40 pro rozmezí $1.10^{-7} - 1.10^{-6}$ mol.L⁻¹. Charakteristika kalibračních přímek pro stanovení kyseliny pikrové na p-AgSA-CE v prostředí vodného roztoku pufru o pH 2,0 je shrnuta v tab. 9. V tab. 10 jsou statisticky vyhodnocena měření opakovatelnosti pro nejvyšší stanovovanou koncentraci 1.10^{-4} mol.L⁻¹ a nejnižší stanovitelnou koncentraci 1.10^{-7} mol.L⁻¹.



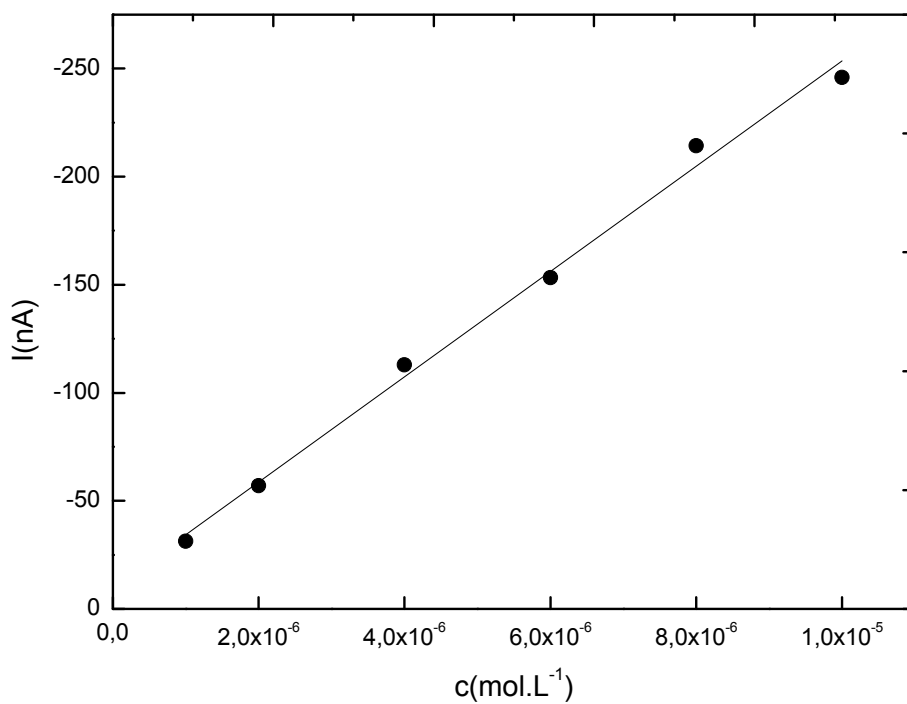
Obr. 35 DC voltamogram kyseliny pikrové v rozmezí $1.10^{-5} - 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Koncentrace kyseliny pikrové: $1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (1); $8.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (2); $6.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (3); $4.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (4); $2.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (5); $1.10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ (6). Měřeno na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200 \text{ mV}$, $E_{reg2} = -950 \text{ mV}$)



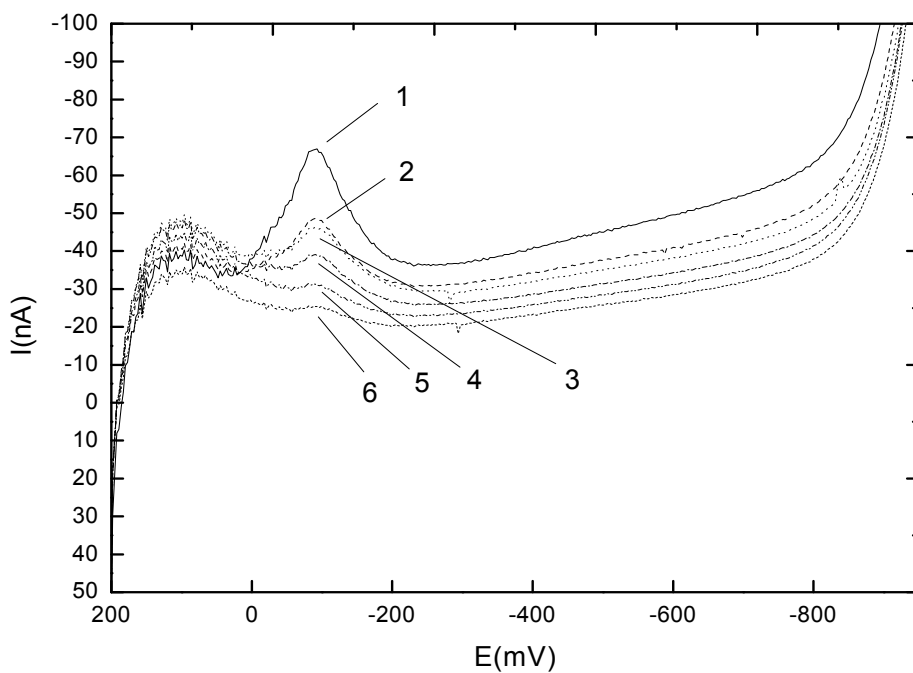
Obr. 36 Závislost proudu píku na koncentraci v rozsahu $1.10^{-5} - 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Měřeno na p-AgSA-CE pomocí DCV v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200 \text{ mV}$, $E_{reg2} = -950 \text{ mV}$)



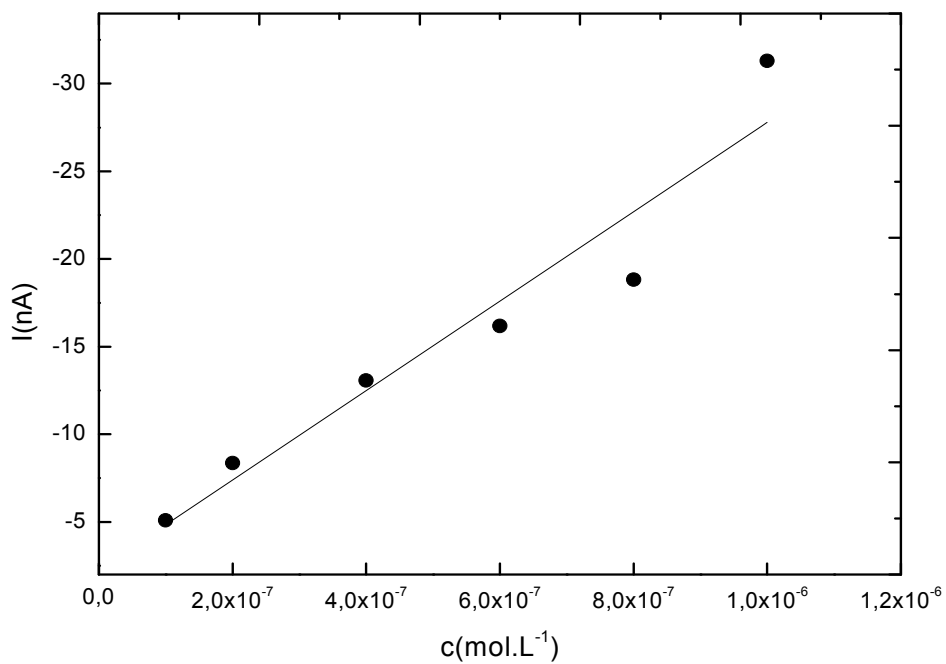
Obr. 37 DC voltamogram kyseliny pikrové v rozmezí 1.10^{-6} - 1.10^{-5} mol.L⁻¹. Koncentrace kyseliny pikrové: 1.10^{-5} mol.L⁻¹(1); 8.10^{-6} mol.L⁻¹(2); 6.10^{-6} mol.L⁻¹(3); 4.10^{-6} mol.L⁻¹(4); 2.10^{-6} mol.L⁻¹(5); 1.10^{-6} mol.L⁻¹(6). Měřeno na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV)



Obr. 38 Závislost proudu píku na koncentraci v rozsahu 1.10^{-6} - 1.10^{-5} mol.L⁻¹. Měřeno na p-AgSA-CE pomocí DCV v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200$ mV, $E_{reg2} = -950$ mV)



Obr. 39 DC voltamogram kyseliny pikrové v rozmezí $1.10^{-7} - 1.10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$. Koncentrace kyseliny pikrové: $1.10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ (1); $8.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (2); $6.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (3); $4.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (4); $2.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (5); $1.10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$ (6). Měřeno na p-AgSA-CE v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200 \text{ mV}$, $E_{reg2} = -950 \text{ mV}$)



Obr. 40 Závislost proudu píku na koncentraci v rozsahu $1.10^{-7} - 1.10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$. Měřeno na p-AgSA-CE pomocí DCV v roztoku B-R pufru pH 2,0. Regenerační potenciály ($E_{reg1} = 200 \text{ mV}$, $E_{reg2} = -950 \text{ mV}$)

Tab. 9 Charakteristika kalibračních přímek stanovení kyseliny pikrové technikou DCV ve vodném roztoku B-R pufru o pH 2,0 na p-AgSA-CE

c (mol.L ⁻¹)	směrnice (mA.L.mol ⁻¹)	úsek (nA)	R	L _Q (mol.L ⁻¹)
1.10 ⁻⁵ - 1.10 ⁻⁴	-17,1	-64	-0,9985	
1.10 ⁻⁶ - 1.10 ⁻⁵	-24,4	-10	-0,9966	
1.10 ⁻⁷ - 1.10 ⁻⁶	-25,5	-2,3	-0,9540	5,5.10 ⁻⁸

Tab. 10 Statistické vyhodnocení opakovatelnosti měření kyseliny pikrové pomocí DCV na p-AgSA-CE v prostředí B-R pufru pH 2,0 při koncentraci 1.10⁻⁴ mol.L⁻¹ a 1.10⁻⁷ mol.L⁻¹ (n= 10, α= 0,05)

c (mol.L ⁻¹)	\tilde{x} (nA)	r (nA)	s (nA)	s _r (%)
1.10 ⁻⁴	-1270	110	25	1,97
1.10 ⁻⁷	-5,10	0,40	0,09	1,72

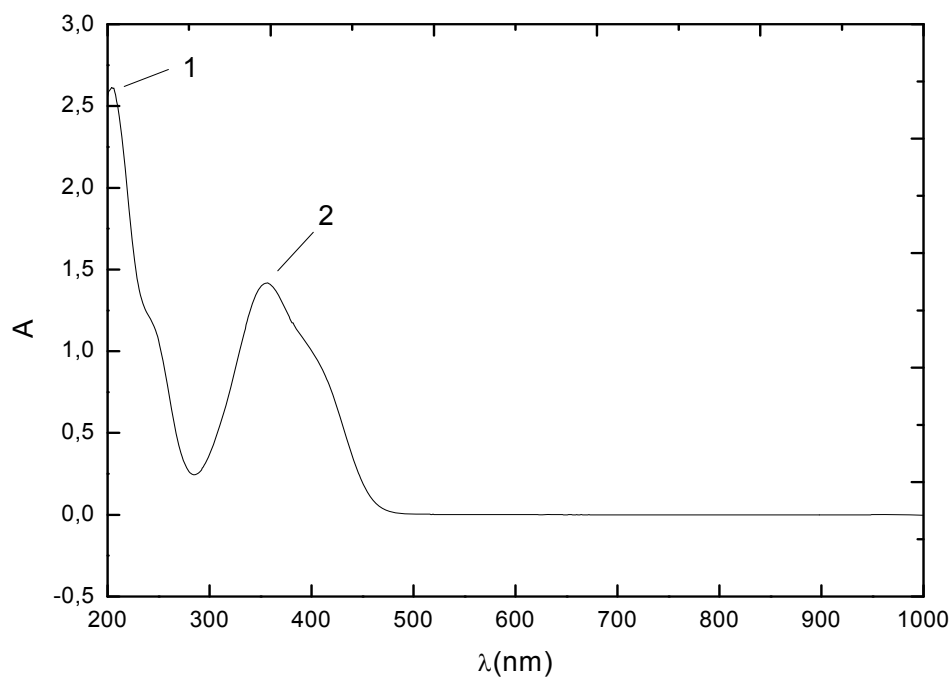
4. Spektrofotometrická stanovení

4.1. Spektrofotometrické stanovení 5-NBIA

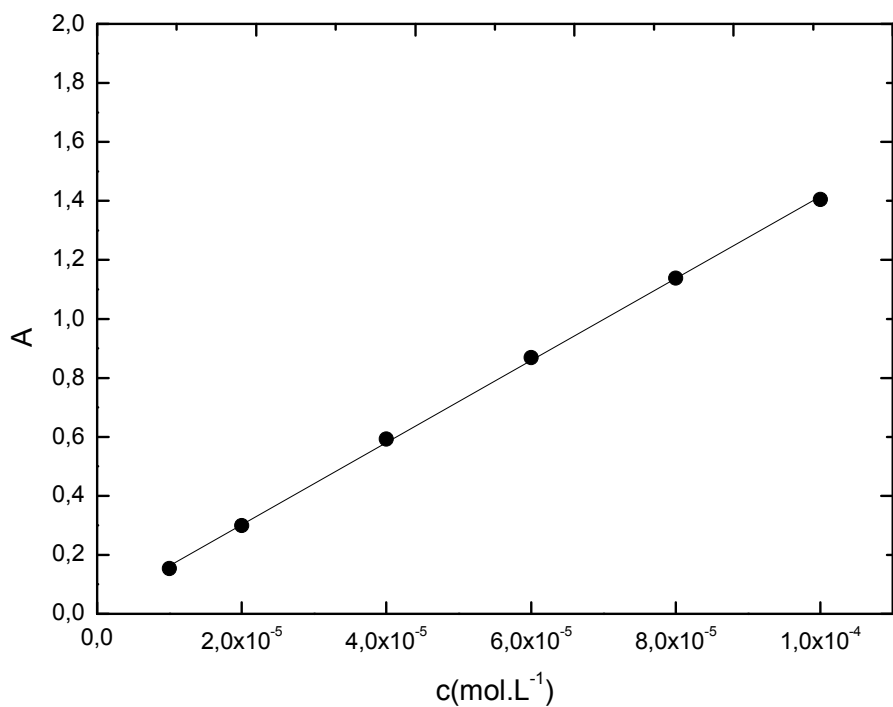
Spektrofotometrické stanovení 5-NBIA nebylo provedeno. Důvodem byla nemožnost porovnat toto stanovení s jeho voltametrickým stanovením.

4.2. Spektrofotometrické stanovení kyseliny pikrové

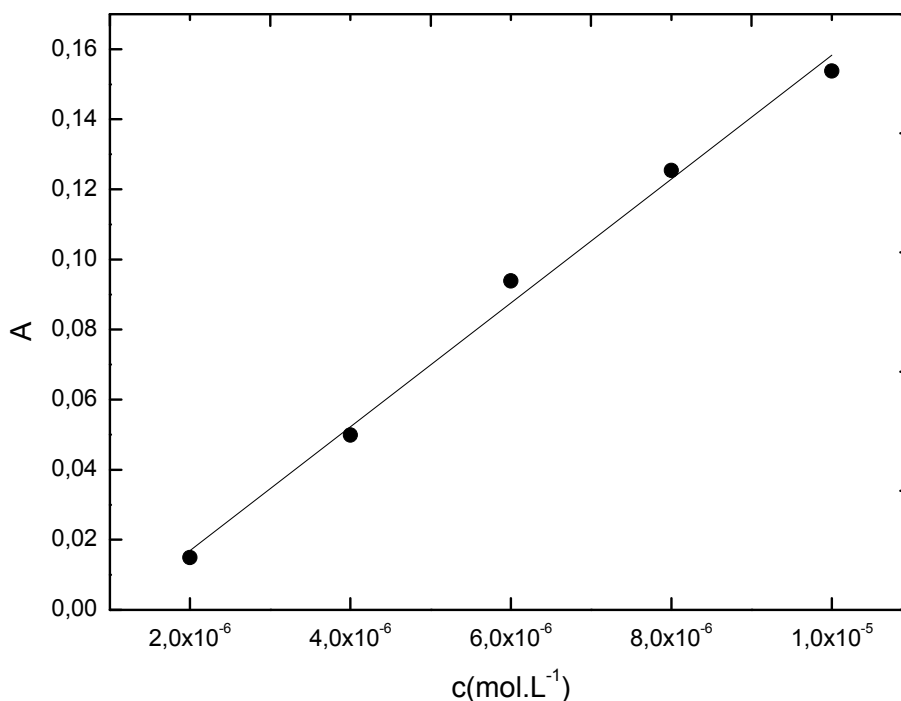
Pro srovnání dosažených výsledků s jinou možností analytického stanovení kyseliny pikrové byla využita schopnost kyseliny pikrové absorbovat světelné záření v UV oblasti. Bylo provedeno spektrofotometrické stanovení. Bylo zjištěno absorpční spektrum kyseliny pikrové, které je zobrazeno na obr. 41, ve kterém jsou vidět dva píky - první při 205 nm a druhý při 357 nm. Pro kalibrační závislost byl využit druhý pík s vlnovou délkou 357 nm. Na obr. 42 a obr. 43 jsou zobrazeny kalibrační přímky v rozmezí 2.10⁻⁶ – 1.10⁻⁴ mol.L⁻¹. Při spektrofotometrickém stanovení bylo dosaženo nejnižší vyhodnotitelné koncentrace 2.10⁻⁶ mol.L⁻¹. V tab. 11 je přehled charakteristik kalibračních přímek.



Obr. 41 Absorpční spektrum roztoku kyseliny pikrové ($c=1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) v deionizované vodě. Pík při 205 nm (1), pík při 357 nm (2). Měřeno v křemenné kyvetě proti deionizované vodě, optická dráha 1 cm



Obr. 42 Závislost absorbance kyseliny pikrové na její koncentraci v rozsahu $1 \cdot 10^{-5} - 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Měřeno v křemenné kyvetě, optická dráha 1 cm. Jako blank byla použita deionizovaná voda



Obr. 43 Závislost absorbance kyseliny pikrové na koncentraci v rozsahu $1.10^{-6} - 1.10^{-5}$ mol.L⁻¹. Měřeno v křemenné kyvetě, optická dráha 1 cm. Jako blank byla použita deionizovaná voda

Tab. 11 Charakteristika kalibračních přímk stanoví kyseliny pikrové spektrofotometrickým měřením. Měřeno v křemenné kyvetě, optická dráha 1 cm

c (mol.L ⁻¹)	směrnice (kL.mol ⁻¹)	úsek	R	L_Q (mol.L ⁻¹)
$1.10^{-5} - 1.10^{-4}$	17,7	-0,018	0,9998	
$2.10^{-6} - 1.10^{-5}$	13,9	0,024	0,9959	$2,5.10^{-6}$

5. Závěr

Byl zjišťován vliv pH na voltametrické chování 5-NBIA. Voltametrické stanovení 5-NBIA technikou DPV a DCV probíhalo ve vodném roztoku B-R pufru pH 5,0 na p-AgSA-CE. Pro 5-NBIA nebyla proměřena kalibrační závislost, protože došlo k znehodnocení odezvy této látky pravděpodobně vlivem tvorby komplexu na povrchu elektrody a obsazením aktivních míst. Měření stálosti zásobního roztoku 5-NBIA potvrdilo, že znehodnocení odezvy nemohlo být způsobeno způsobem skladování zásobního roztoku, a že v něm neprobíhaly reakce, při kterých by se měnil charakter látky. Srovnávací spektrofotometrické stanovení nebylo provedeno.

Byl zjišťován vliv pH na voltametrické chování kyseliny pikrové. Stanovení kyseliny pikrové technikou DPV a DCV probíhalo ve vodném roztoku B-R pufru pH 2,0 na p-AgSA-CE. Technikou DPV byla kalibrační závislost změřena v rozsahu koncentrací $1 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹. Nejnižší vyhodnotitelná koncentrace činila $1 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹. Vypočtená mez stanovení měla hodnotu $2,5 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹. Pro techniku DCV byla naměřena kalibrační závislost v rozmezí $1 \cdot 10^{-7}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹. Nejnižší vyhodnotitelná koncentrace byla $1 \cdot 10^{-7}$ mol.L⁻¹. Vypočtená mez stanovení činila $5,5 \cdot 10^{-8}$ mol.L⁻¹.

Při srovnávacím spektrofotometrickém stanovení byla kalibrační závislost pro kyselinu pikrovou proměřena v rozmezí $2 \cdot 10^{-6}$ - $1 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹. Nejnižší vyhodnotitelná koncentrace byla $2 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹. Mez stanovitelnosti byla vypočítána na $2,5 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹.

6. Literatura

- [1] Chemicals Inspection and Testing Institute, *Biodegradation and bioaccumulation data of existing chemicals based on the CSCL Japan.*, Japan Chemical Industry Ecology - Toxicology and Information Center., Tokyo, Japan, 1992.
- [2] Weast (ed.) R.C., *Handbook of Chemistry and Physics. 60th ed.*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1979.
- [3] Lewis R.J., *Sax's Dangerous Properties of Industrial Materials. 9th ed.*, Van Nostrand Reinhold, New York, NY, 1996.
- [4] Lewis Sr (Ed.). R.J., *Hawley's Condensed Chemical Dictionary. 13th ed.*, John Wiley& Sons, New York, NY, 1997.
- [5] HSDB: National Library of Medicine's TOXNET system, 5-nitrobenzimidazole
Dostupné z URL: < <http://toxnet.nlm.nih.gov> > [cit. 23.10.2009].
- [6] Merschundermann V., Mochayedi S., Kevekordes S., Kern S., Wintermann F.:*The Genotoxicity of Unsubstituted and Nitrated Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons* Anticancer Res., **13:6A** (1993) 2037-2043.
- [7] Kawanaka Y., Matsumoto E., Wang N., Yun S. J., Sakamoto K.:*Contribution of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons to the mutagenicity of ultrafine particles in the roadside atmosphere* Atmos. Environ., **42:32** (2008) 7423-7428.
- [8] Merschundermann V., Kern S., Wintermann F.:*Genotoxicity of Nitrated Polycyclic Aromatic-Hydrocarbons and Related Structures on Escherichia-Coli Pq37 (Sos-Chromotest)* Environ. Mol. Mutagen., **18:1** (1991) 41-50.
- [9] Jung D. K. J., Klaus T., Fent K.:*Cytochrome P450 induction by nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons, azaarenes, and binary mixtures in fish hepatoma cell line PLHC-1* Environ. Toxicol. Chem., **20:1** (2001) 149-159.
- [10] Crabtree H. C., Hart D., Thomas M. C., Witham B. H., McKenzie I. G., Smith C. P.:*Carcinogenic Ranking of Aromatic-Amines and Nitro-Compounds* Mutation Research, **264:4** (1991) 155-162.
- [11] National Cancer Institute, Bioassay of 6-Nitrobenzimidazole for Carcinogenicity, Technical Report Series No. 117 DHEW Pub No. (NIH) 79-1372, U.S. Department of Health Education and Welfare, Bethesda, MD 1979.
- [12] Chiu C. W., Lee L. H., Wang C. Y., Bryan G. T.:*Mutagenicity of Some Commercially Available Nitro-Compounds for Salmonella-Typhimurium* Mutation Research, **58:1** (1978) 11-22.
- [13] Wright J., Frank L. R., Bush D., Harrison G. H.:*Evaluation of Nitrobenzimidazoles as Hypoxic Cell Radiosensitizers* Radiat. Res., **95:1** (1983) 187-196.
- [14] Hilal S.H., *Quantitative Treatments of Solute/Solvent Interactions: Theoretical and Computational Chemistry Vol.1*, Elsevier, NY, NY, 1994.
- [15] Meylan W.M., Howard P. H.: *Bond Contribution Method for Estimating Henrys Law Constants* Environ. Toxicol. Chem., **10:10** (1991) 1283-1293.
- [16] Hrelia P., Morotti M., Vigagni F., Burnelli S., Garuti L., Sabatino P., Cantelliforti G.: *Synthesis of a Series of 5-Nitro-(Benzimidazoles and Indoles) as Novel Antimycotics and Evaluation as Genotoxins in the Ames Test* Mutagenesis, **8:3** (1993) 183-188.
- [17] Fuchs A., Devries F.W.: *Bacterial Breakdown of Benomyl .1. Pure Cultures* Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology, **44:3-4** (1978) 283-292.
- [18] Lyman W.J., *Environmental Exposure From Chemicals Vol I*, CRC Press Boca Raton, FL, 1985.
- [19] Meylan W. M., Howard P. H.:*Computer Estimation of the Atmospheric Gas-Phase Reaction-Rate of Organic-Compounds with Hydroxyl Radicals and Ozone* Chemosphere, **26:12** (1993) 2293-2299.
- [20] Meylan W., Howard P. H., Boethling R. S.: *Molecular Topology Fragment Contribution Method for Predicting Soil Sorption Coefficients* Environ. Sci. Technol., **26:8** (1992) 1560-1567.

- [21] Barek J., Cvacka J., Muck A., Quaiserova V., Zima J., Electrochemical methods for monitoring of environmental carcinogens, 11th European Conference on Analytical Chemistry, Springer-Verlag, Lisbon, Portugal, 2000, p. 556-562.
- [22] Oliferova L., Statkus M., Tsysin G., Shpigun O., Zolotov Y.: *On-line solid-phase extraction and HPLC determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water using fluorocarbon polymer sorbents* Anal. Chim. Acta, **538**:1-2 (2005) 35-40.
- [23] da Luz E. R., Gonsalves T. F. M., Aucelio R. Q.: *Determination of basic azaarenes in aviation kerosene by solid-phase extraction and HPLC-fluorescence detection* J. Sep. Sci., **32**:12 (2009) 2058-2065.
- [24] Kuo Ch.-T., Chen H.-W., Lin S.-T.: *Trace determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons using liquid chromatography with on-line electrochemical reduction and fluorescence detection* Anal. Chim. Acta, **482**:2 (2003) 219-228.
- [25] Koci K., Petrovska H., Simek Z., Varadova E., Syslova A.: *Extraction of polycyclic aromatic nitrogen heterocycles from spiked soil samples* Int. J. Environ. Anal. Chem., **87**:2 (2007) 111-123.
- [26] Barek J., Pumera M., Muck A., Kaderabkova M., Zima J., Polarographic and voltammetric determination of selected nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons, 10th European Conference on Analytical Chemistry, Euroanalysis 10, Elsevier Science Bv, Basel, Switzerland, 1998, p. 141-146.
- [27] Barek J., Mejstřík V., Muck A., Zima J.: *Polarographic and voltammetric determination of chemical carcinogens* Crit. Rev. Anal. Chem., **30**:1 (2000) 37-57.
- [28] Barek J., Fischer J., Navratil T., Peckova K., Yosypchuk B.: *Silver solid amalgam electrodes as sensors for chemical carcinogens* Sensors, **6**:4 (2006) 445-452.
- [29] Navrátil T., Barek J., Fašinová-Šebková S.: *Differential Pulse Voltammetric Determination of Selected Nitro-Compounds on Silver, Solid Silver Composite, and Solid Graphite Composite Electrodes* Electroanalysis, **21**:3-5 (2008) 309-315.
- [30] Sebkova S., Navratil T., Kopanica M.: *Comparison of different types of silver composite electrodes to varied amount of silver on example of determination of 2-nitronaphthalene* Anal. Lett., **36**:13 (2003) 2767-2782.
- [31] Daňhel A., Pecková K., Čížek K., Barek J., Zima J., Yosypchuk B., Navrátil T.: *Voltametrické stanovení genotoxických dinitronaftalenů pomocí rtuťovým meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrody* Chem. Listy, **101**:2 (2007) 144-149.
- [32] Jiranek I., Peckova K., Kralova Z., Moreira J. C., Barek J., The use of silver solid amalgam electrode for voltammetric and amperometric determination of nitroquinolines, 6th Spring Meeting of the International Society-of-Electrochemistry, Pergamon-Elsevier Science Ltd, Foz do Lguacu, BRAZIL, 2008, p. 1939-1947.
- [33] Yosypchuk B., Navratil T., Lukina A.N., Peckova K., Barek J.: *Solid amalgam composite electrode as a new sensor for the determination of biologically active compounds* Chem. Anal., **52**:6 (2007) 897-910.
- [34] Steinheimer T. R, Ondrus M. G.: *Determination of Selected Azaarenes in Water by Bonded-Phase Extraction and Liquid-Chromatography* Anal. Chem., **58**:8 (1986) 1839-1844.
- [35] Xu X.B., Nachtman J.P., Jin Z.L., Wei E.T., Rappaport S.M., Burlingame A.L.: *Isolation and Identification of Mutagenic Nitro-Pah in Diesel-Exhaust Particulates* Anal. Chim. Acta, **136**:APR (1982) 163-174.
- [36] Shinohara R., Kido A., Okamoto Y., Takeshita R.: *Determination of Trace Azaarenes in Water by Gas-Chromatography and Gas-Chromatography Mass-Spectrometry* J. Chromatogr., **256**:1 (1983) 81-91.
- [37] Delhomme O., Millet M., Comparison of Two Analytical Methods for the Determination of Azaarenes in Atmospheric Particulate Matter, 21st International Symposium for Polycyclic Aromatic Compounds, Taylor & Francis Ltd, Trondheim, Norway, 2007, p. 518-532.
- [38] Bodzek D., Dobosz C., Janoszka B., Konecki J.: *Quantification of nitrogen-containing polycyclic aromatic compounds in sewage sludges by TLC-densitometry* JPC-J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC, **12**:4 (1999) 265-268.

- [39] Tyrpien K., Bodzek D., Janoszka B.: *Application of Tlc and Gc-Ms to the Identification of Azaarenes in Sewage Sludges* JPC-J. Planar Chromatogr.-Mod. TLC, **8**:1 (1995) 75-77.
- [40] Warzecha L., Janoszka B., Dobosz C.: *Qualitative and quantitative determination of azaarenes by high-performance liquid chromatography* Chem. Anal., **44**:4 (1999) 677-687.
- [41] Delhomme O., Herckes P., Millet M.: *Determination of nitro-polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric aerosols using HPLC fluorescence with a post-column derivatisation technique* Anal. Bioanal. Chem., **389**:6 (2007) 1953-1959.
- [42] Svabensky R., Koci K., Simek Z.: *The study of properties of HPLC determination of polycyclic aromatic nitrogen heterocycles* Int. J. Environ. Anal. Chem., **87**:5 (2007) 337-349.
- [43] Brichac J., Zima J., Berek J.: *HPLC determination of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons after their reduction to amino derivatives* Anal. Lett., **37**:11 (2004) 2379-2392.
- [44] Xu J. H., Lee F. S. C.: *Analysis of nitrated polynuclear aromatic hydrocarbons* Chemosphere, **42**:3 (2001) 245-250.
- [45] HSDB: National Library of Medicine's TOXNET system, picric acid Dostupné z URL: < <http://toxnet.nlm.nih.gov> > [cit. 26.4.2010].
- [46] American Conference of Governmental Industrial Hygienists, *Documentation of the Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices, 6th Ed.*, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, OH, 1991.
- [47] Grant W.M. , *Toxicology of the Eye, 3rd ed*, Charles C. Thomas Publisher, Springfield, 1986.
- [48] Budavari S., *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, Chapman & Hall, Whitehouse Station, NJ, 1996.
- [49] Parmeggiani L., *Encyclopedia of Occupational Health and Safety*, International Labour Office, Geneva, 1983.
- [50] American Conference of Governmental Industrial Hygienist, *Documentation of Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices 5th ed.*, American Conference of Governmental Industrial Hygienist Inc, Cincinnati, OH, 1986.
- [51] Songjaroen T., Maturros T., Sappat A., Tuantranont A., Laiwattanapaisal W.: *Portable microfluidic system for determination of urinary creatinine* Anal. Chim. Acta, **647**:1 (2009) 78-83.
- [52] Labbe D. , Vassault A. , Cherruau B. , Baltassat P. , Bonete R. , Carroger G. , Costantini A. , Guerin S. , Houot O. , Lacour B. , Nicolas A. , Thioulouse E. , Trepo D. : *Method selected for creatinine measurement in plasma or serum. Determination of optimal measurement conditions* Ann. Biol. Clin., **54**:8-9 (1996) 285-298.
- [53] Takagi K., Takayana I.: *Effects of Aromatic Nitrocompounds and Phenolderivatives on Cholinergic Nerve Ending of Smooth Muscle and Skeletal Muscle* Arch. Int. Pharmacodyn. Ther., **155**:2 (1965) 373-380.
- [54] National Research Council, *Drinking Water & Health*, National Academy Press, Washington, DC, 1981.
- [55] Whong W. Z., Edwards G. S.: *Genotoxic Activity of Nitroaromatic Explosives and Related-Compounds in Salmonella-Typhimurium Mutation Research*, **136**:3 (1984) 209-215.
- [56] Wyman J. F., Guard H. E., Won W. D., Quay J. H.: *Conversion of 2,4,6-Trinitrophenol to a Mutagen by Pseudomonas-Aeruginosa* Appl. Environ. Microbiol., **37**:2 (1979) 222-226.
- [57] Klaassen C.D., M.O. Amdur, Doull J. (eds.), *Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons. 5th ed.* , McGraw-Hill, NY, NY, 1995.
- [58] Serjeant E.P. D.B., *Ionisation Constants of Organic Acids in Aqueous Solution. IUPAC Chemical Data Series No 23.*, Pergamon Press, NY, NY, 1979.
- [59] Tabak H. H., Kabler P. W., Chambers C. W.: *Microbial Metabolism of Aromatic Compounds .I. Decomposition of Phenolic Compounds + Aromatic Hydrocarbons by Phenol-Adapted Bacteria* J. Bacteriol., **87**:4 (1964) 910-919.
- [60] Kearney P.C., Kaufman D. D. (eds.), *Herbicides: Chemistry, Degredation and Mode of Action. Volumes 1 and 2. 2nd ed.* , Marcel Dekker, New York, NY, 1975.
- [61] Gorontzy T. , Drzyzga O. , Kahl M.W. , Bruns-Nagel D. , Breitung J. , von Loew E. , K.H. B.: *Microbial degradation of explosives and related compounds* Critical Review of Microbiology, **20**:4 (1994) 265-284.

- [62] Elmosallamy M. A. F. :*New highly selective picrate sensors based on charge-transfer complexes* Anal. Sci., **20**:2 (2004) 285-290.
- [63] National Institute for Occupational Safety Health, *NIOSH Manual of Analytical Methods. 2nd ed*, U.S. Government Printing Office, Washington, DC, 1977-present.
- [64] Long L. P., Wang K. M., Yang R. H., Yang X. H. :*A picric acid optical chemical sensor based on fluorescence quenching* Chin. J. Anal. Chem., **31**:4 (2003) 414-419.
- [65] Niu C. G., Li Z. Z., Zhang X. B., Lin W. Q., Shen G. L., Yu R. Q.:*Covalently immobilized aminonaphthalimide as fluorescent carrier for the preparation of optical sensors* Anal. Bioanal. Chem., **372**:4 (2002) 519-524.
- [66] Pamme N., Steinbach K., Ensinger W. J., Schmidt T. C.:*Analysis of polynitrophenols and hexyl by liquid chromatography-mass spectrometry using atmospheric pressure ionisation methods and a volatile ion-pairing reagent* J. Chromatogr. A, **943**:1 (2002) 47-54.
- [67] Rawat J. P., Singh J. P., Bhattacharjee P.: *Spectrophotometric Determination of Picric Acid with Zinc and Ammonium-Chloride* Fresenius Zeitschrift Fur Analytische Chemie, **293**:5 (1978) 416-416.
- [68] Hayashi S., Kotsuji K., Sakurai T., Kimura K., Yamamoto Y.: *Spectrophotometric Determination of Anions by Solvent Extraction with Metal Chelate Cations .13. a New Method for Determination of Picric Acid* Bull. Chem. Soc. Jpn., **38**:9 (1965) 1494-1498.
- [69] Romantsova G. I.:*The Spectrophotometric Determination of Picric Acid and Dinitrophenols as Microimpurities* Ind. Lab., **29**:11 (1963) 1451-1451.
- [70] Ni R., Tong R. B., Guo C. C., Shen G. L., Yu R. Q.:*An anthracene/porphyrin dimer fluorescence energy transfer sensing system for picric acid* Talanta, **63**:2 (2004) 251-257.
- [71] Zeng H. H., Wang K. M., Yu R. Q.:*Development of an Optrode Membrane for the Determination of Picric Acid-Based on Fluorescence Energy-Transfer* Anal. Chim. Acta, **298**:2 (1994) 271-277.
- [72] Shankaran D. R., Gobi K. V., Matsumoto K., Imato T., Toko K., Miura N.:*Highly sensitive surface plasmon resonance immunosensor for parts-per-trillion level detection of 2,4,6-trinitrophenol* Sens. Actuator B-Chem., **100**:3 (2004) 450-454.
- [73] Yosypchuk B., Barek J.:*Analytical Applications of Solid and Paste Amalgam Electrodes* Crit. Rev. Anal. Chem., **39**:3 (2009) 189-203.
- [74] Thorne P.G., Jenkins T.F.:*A field method for quantifying ammonium picrate and picric acid in soil* Field Anal. Chem. Technol., **1**:3 (1997) 165-170.