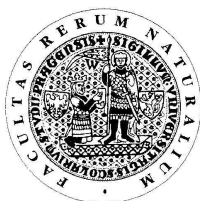


**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

Přírodovědecká fakulta  
Katedra analytické chemie

Doktorský studijní program analytická chemie  
Autoreferát disertační práce



**PŘÍSPĚVEK K VYUŽITÍ NOVÝCH TYPŮ UHLÍKOVÝCH  
PASTOVÝCH A VLÁKNOVÝCH ELEKTROD  
PRO VOLTAMETRICKÉ A AMPEROMETRICKÉ STANOVENÍ  
5-AMINO-6-NITROCHINOLINU A RESVERATROLU**

**Mgr. Lenka Němcová**  
Školitel: Prof. RNDr. Jiří Zima, CSc.

Praha 2012

## ABSTRAKT

V rámci této disertační práce byly studovány elektrochemické vlastnosti nových typů uhlíkových pastových elektrod (CPE) a uhlíkových vláknových tyčinkových elektrod (CFRE), které byly současně využity pro vývoj vysoce citlivých a selektivních voltametrických a amperometrických metod pro stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu a *trans*- a *cis*- izomerů resveratrolu.

Uhlíkové pastové elektrody byly porovnány z hlediska velikosti mikrokuliček skelného uhlíku obsažených v pastě (průměry 0,4 – 12 μm, 10 – 20 μm, 20 – 50 μm) ve srovnání s uhlíkovou pastovou elektrodou z práškového grafitu a elektrodou ze skelného uhlíku. Elektrochemické vlastnosti byly zkoumány s použitím hexakvanoželeznanu draselného ve vodném prostředí a 5-amino-6-nitrochinolinu (5A6NQ) v prostředí methanol-voda.

Dále byla uhlíková pastová elektroda využita v amperometrickém detektoru typu wall-jet zapojeném sériově za spektrometrický detektor k vývoji nové HPLC metody s elektrochemickou detekcí a spektrofotometrickou detekcí pro stanovení *trans*-resveratrolu a *cis*-resveratrolu ve vzorcích nažek, slupek a listů pohanky tatarské a obecné. Metoda byla optimalizována a využita pro zjištění skutečného obsahu resveratrolu ve vzorcích šesti variet pohanky obecné a dvou variet pohanky tatarské.

Elektrochemické vlastnosti uhlíkových vláknových tyčinkových elektrod byly sledovány u elektrod o různých průměrech (0,8 mm, 2 mm a 3 mm) pomocí porovnání stanovení vybraných analytů (hexakvanoželeznan draselný, 5-amino-6-nitrochinolin) s využitím voltametrických metod (DC voltametrie (DCV), diferenční pulzní voltametrie (DPV), cyklické voltametrie (CV), adsorpční rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie (AdSDPV)). Praktické použití optimalizovaných metod bylo demonstrováno na stanovení 5A6NQ na CFRE v modelových vzorcích pitné a rybniční vody.

V poslední části práce byla vyvinuta nová metoda stanovení *trans*-resveratrolu využívající voltametrické metody (DCV, DPV a AdSDPV) a průtokové injekční analýzy (FIA) s elektrochemickou detekcí na CFRE a tato byla porovnána se stanovením na CPE a v případě FIA i se spektrofotometrickou detekcí. Praktická aplikace metod byla testována na stanovení *trans*-resveratrolu v pastilkách přípravku Evelor.

## OBSAH

1. ÚVOD .....	4
2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE .....	7
3. VÝSLEDKY A DISKUZE .....	9
3.1 Voltametrické porovnání uhlíkových pastových elektrod z různě velkých mikrokuliček skelného uhlíku .....	9
3.2 Stanovení resveratrolu v nažkách, slupkách a listech pohanky tatarské a obecné pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí na uhlíkové pastové elektrodě 11	
3.3 Elektrochemické vlastnosti a stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na uhlíkových vláknových tyčinkových elektrodách.....	12
3.4 Voltametrické a amperometrické stanovení <i>trans</i> -resveratrolu na uhlíkové vláknové tyčinkové elektrodě a uhlíkové pastové elektrodě .....	14
4. ZÁVĚR.....	17
5. POUŽITÁ LITERATURA .....	19
6. CURRICULUM VITAE .....	22
7. SEZNAM PUBLIKACÍ .....	23

---

Finanční podpora této disertační práce byla poskytnuta z následujících zdrojů: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy České republiky (MSM 0021620857, KONTAKT (AMVIS) projekt ME10004 (NEMVAD)), Karlova univerzita v Praze (projekt SVV 2012-265201), Hlávkova nadace (Nadání).

# 1. ÚVOD

Tato disertační práce přispívá k rozvoji a využití nových typů uhlíkových pastových a vláknových elektrod pro voltametrické a amperometrické stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu (5A6NQ) a obou izomerů resveratrolu (*cis*- a *trans*-).

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilben, Obr. 1 A, B) byl poprvé izolován z kořenů čemeřice bílé v roce 1940<sup>1</sup>. V roce 1976 byl resveratrol nalezen v listech a slupkách hroznového vína<sup>2</sup>. Od 90.let 20. století vzrůstal zájem o jeho výskyt a vlastnosti v důsledku tzv. „Francouzského paradoxu“<sup>3</sup>. Resveratrol existuje ve dvou izomerních formách *trans*-resveratrolu a *cis*-resveratrolu. *Trans*-izomer je stabilnější forma, izomerizace *trans*- na *cis*-formu probíhá UV zářením a vysokými hodnotami pH, obrácený přechod izomerů z *cis*- na *trans*-formu probíhá působením světla ve viditelné oblasti, vysokými teplotami nebo nízkými hodnotami pH<sup>4</sup>. V rostlinném materiálu se obvykle vyskytuje směs obou izomerů, ale množství *trans*-resveratrolu obvykle převažuje. Komerčně dostupný je pouze *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol je částečně možné z *trans*-formy připravit ozářením denním světlem, ale výsledkem bude vždy směs obou izomerů<sup>5</sup>. Resveratrol patří do skupiny fytoalexinů, což jsou sekundární metabolity rostlin, které se tvoří jako odpověď na stres. Jeho výskyt je velmi široký, udává se, že byl nalezen ve více jak 72 rostlinných druzích (vinné hrozny, arašíd, červené zelí, brusinky, borůvky a další)<sup>6</sup>. Resveratrol byl rovněž identifikován spolu s ostatními flavonoidy v pohance<sup>7</sup>. Jelikož nebyl dosud znám konkrétní obsah resveratrolu v pohance, část této práce byla zaměřena na stanovení resveratrolu v nažkách, slupkách a listech ve vybraných varietách pohanky obecné a tatarské. Ve velké řadě publikací byly prokázány jeho protizánětlivé, fungicidní, antioxidační, neuroprotektivní, kardioprotektivní, antikarcinogenní, hepatoprotektivní a fytoestrogenní účinky<sup>8-10</sup>. Mezi metody využívané ke stanovení resveratrolu se řadí HPLC s UV/VIS<sup>11</sup>, MS<sup>12</sup>, fluorescenční<sup>13</sup> a elektrochemickou detekcí<sup>14</sup>, dále GC/MS<sup>15</sup> a elektroforéza<sup>16</sup>.

Druhý analyt, kterému je věnována pozornost v této práci, je 5-amino-6-nitrochinolin (5A6NQ, Obr. 1 C) patřící do skupiny nitro- a aminoderivátů heterocyklických uhlovodíků. Toxikologické vlastnosti 5A6NQ byly studovány na *Tetrahymena pyriformis* (IGC<sub>50</sub>-koncentrace způsobující 50% pokles růstu), které jsou srovnatelné s 3,5-dinitroanilinem<sup>17</sup>. Látka byla použita na syntézu nových druhů lokálních anestetik<sup>18</sup> a některých radioligandů<sup>19</sup> s využitím v pozitronové emisní tomografii. Obecně jsou heterocyklické aminy (HCA)

skupinou škodlivých látek<sup>20</sup>. Vznikají zejména při tepelném zpracování masa (nad 150 °C)<sup>21</sup>, spalování fosilních paliv<sup>22</sup> a nacházejí se také v cigaretovém kouři<sup>23</sup>. 5-Amino-6-nitrochinolin byl využit k testování elektrochemických vlastností použitých nových elektrod. Elektrochemické vlastnosti 5A6NQ byly již studovány v předešlých pracích<sup>24-26</sup>. Z proměřených cyklických voltamogramů v Brittonově-Robinsonově (BR) pufru o pH 2, 7 a 11 na CPE (s obsahem mikrokuliček skelného uhlíku s průměry 0,4 – 12 μm) vyplývá, že redukce i oxidace 5A6NQ při daných podmínkách probíhá ireverzibilně za kontroly nejen difuze a během měření dochází k pasivaci pracovní elektrody. Pro použité metody anodické a katodické DCV, DPV a AdSDPV byly nalezeny optimální podmínky a naměřeny meze detekce, které jsou uvedeny v tabulce 1.

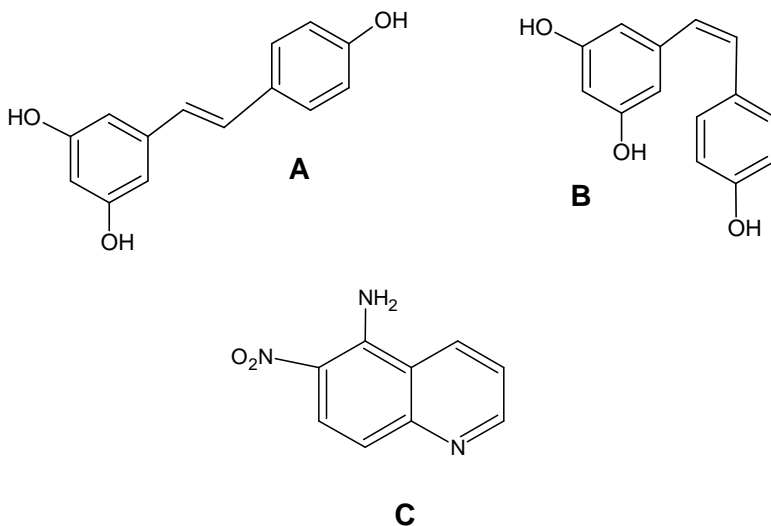
**Tab. 1** <sup>25,26</sup>

Optimální podmínky a meze detekce pro voltametrické metody stanovení 5A6NQ

Voltametrická metoda stanovení 5A6NQ	$L_D$ mol L <sup>-1</sup>
Anodická DPV v BR pufru o pH 11 s MeOH (1:1, V/V)	$2,0 \times 10^{-6}$
Anodická DCV v BR pufru o pH 11 s MeOH (1:1, V/V)	$3,1 \times 10^{-6}$
Katodická DPV 0,1 mol L <sup>-1</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> o pH 1,6 s MeOH (1:1, V/V)	$1,3 \times 10^{-6}$
Katodická DPV v BR pufru o pH 11 s MeOH (1:1, V/V)	$1,9 \times 10^{-6}$
Katodická DCV v 0,1 mol L <sup>-1</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> o pH 1,6 s MeOH (1:1, V/V)	$1,5 \times 10^{-6}$
Anodická AdSDPV v BR pufru o pH 11 s MeOH (95:5, V/V), $E_{aku} = 500$ mV, $t_{aku} = 5$ minut	$1,4 \times 10^{-6}$

Po získání poznatků z voltametrických metod bylo prostudováno chování 5A6NQ v průtokových systémech. Vyvinuta byla metoda stanovení 5A6NQ pomocí RP-HPLC s elektrochemickou detekcí na CPE (s obsahem mikrokuliček skelného uhlíku s průměry 0,4 – 12 μm) v porovnání se spektrofotometrickou detekcí (295 nm). V případě elektrochemické detekce byla využita jak oxidace, tak i redukce 5A6NQ na CPE. V případě oxidace byly nalezeny optimální podmínky BR pufr pH 7 s methanolem v poměru 10:90 (V/V) a potenciál amperometrické detekce +1,2 V. Meze stanovitelnosti zjištěné pro spektrofotometrickou ( $L_D = 1,1 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>) a amperometrickou detekci ( $L_D = 1,6 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>) jsou srovnatelné<sup>24</sup>. Pro redukci 5A6NQ byly zvoleny jako optimální podmínky mobilní fáze tvořená fosfátovým pufrem o pH 2 s methanolem v poměru 10:90 (V/V) a potenciál amperometrické detekce -0,9 V. Ze získaných mezí detekce pro spektrofotometrickou ( $L_D = 1,3 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup>) a

amperometrickou detekci ( $L_D = 4,9 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ) je patrné, že elektrochemická detekce s využitím redukce 5A6NQ nedosahuje takových výsledků jako pro využití oxidace 5A6NQ<sup>25,26</sup>.



**Obr. 1** Strukturní vzorce zkoumaných sloučenin: *trans*-resveratrol (A), *cis*-resveratrol (B) a 5-amino-6-nitrochinolin (C).

## 2. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Tato disertační práce je předkládána jako příspěvek ke stále významnější oblasti environmentální analýzy. Byla vypracována v rámci výzkumu v UNESCO laboratoři elektrochemie životního prostředí v Praze ve snaze proměřit a porovnat elektrochemické vlastnosti nových typů uhlíkových pastových a vláknových elektrod, které lze současně využít pro vývoj vysoce citlivých a selektivních voltametrických a amperometrických metod pro stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu a obou izomerů resveratrolu (*cis*- a *trans*-).

Práce je založena na připojených čtyřech vědeckých publikacích<sup>27-30</sup>, pro odlišení jsou citovány jako tučný, podtržený horní index.

1. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima, A Voltammetric Comparison of the Properties of Carbon Paste Electrodes Containing Glassy Carbon Microparticles of Various Sizes, *J. Electroanal. Chem.*, 675 (2012): 18-24.
2. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek, D. Janovská, Determination of resveratrol in grains, hulls and leaves of common and tartary buckwheat by HPLC with electrochemical detection at carbon paste electrode, *Food Chem.*, 126 (2011): 374-378.
3. **L. Němcová**, H. Dejmková, J. Barek, J. Zima, Voltammetric determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon fiber rod electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6 (2011): 6373-6384.
4. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima, Determination of *trans*-resveratrol using voltammetric and amperometric methods at carbon fiber rod electrode and carbon paste electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012): 9221-9231.

Cílem této práce bylo vyvinutí elektrochemických metod především pro stanovení *cis*- a *trans*-resveratrolu na uhlíkové pastové elektrodě (CPE) a uhlíkové vláknové tyčinkové elektrodě (CFRE) a porovnání vlastností obou typů použitých elektrod. Jelikož jsou oba izomery resveratrolu citlivé na světlo, byl pro testování elektrochemických vlastností elektrod použit hexakynoželeznatan draselný a 5-amino-6-nitrochinolin (5A6NQ), který navíc umožňuje studium i v katodické oblasti potenciálů. Cílem práce bylo porovnat i uhlíkové pastové elektrody z hlediska velikosti mikrokuliček skelného uhlíku obsažených v pastě (průměry 0,4 – 12 μm, 10 – 20 μm, 20 – 50 μm). Rovněž sledovat vlastnosti uhlíkové vláknové tyčinkové elektrody o různých průměrech (o průměrech 0,8 mm, 2 mm a 3 mm) pomocí porovnání stanovení výše uvedených analytů s využitím voltametrických metod (DC voltametrie

(DCV), diferenční pulzní voltametrie (DPV), cyklické voltametrie (CV), adsorpční rozpouštěcí diferenční pulzní voltametrie (AdSDPV)) a průtokové injekční analýzy (FIA), a to porovnáním s CPE a spektrofotometrií v UV/VIS oblasti. Nově vyvinuté voltametrické a amperometrické metody stanovení *cis*- a *trans*-resveratrolu aplikovat na reálné vzorky pohanky obecné a tatarské (stanovení obsahů resveratrolu ve vzorcích nažek, slupek a listů) a farmaceutický přípravek Evelor.



### 3. VÝSLEDKY A DISKUZE

#### 3.1 Voltametrické porovnání uhlíkových pastových elektrod z různých velikých mikrokuliček skelného uhlíku<sup>27</sup>

Uhlíkové pastové elektrody obsahující mikrokuličky skelného uhlíku jsou běžně známy a používají se hlavně v prostředích s vyšším obsahem organického modifikátoru (methanol, acetonitril)<sup>1,2</sup>. Jelikož doposud nebyly systematicky porovnávány elektrochemické vlastnosti elektrod připravených z různě velikých mikrokuliček skelného uhlíku, tato část práce se zaměřila na tuto tematiku. Testované byly uhlíkové pasty s obsahem 250 mg mikrokuliček skelného uhlíku s průměry 0,4 – 12  $\mu\text{m}$ , 10 – 20  $\mu\text{m}$ , 20 – 50  $\mu\text{m}$  nebo krystalický grafit s průměrem částic 2  $\mu\text{m}$  a ve všech případech byl použit minerální olej jako pastovací kapalina. Elektrochemické vlastnosti byly zkoumány s použitím hexakvanoželeznanu draselného ve vodném prostředí a 5-amino-6-nitrochinolinu (5A6NQ) v prostředí methanol–voda.

#### Elektrochemická charakterizace CPEs

Povrchy připravených past byly fotografovány pod mikroskopem. Ze získaných snímků je zřejmé, že povrch past připravených z mikrokuliček skelného uhlíku je logicky tím hrubší, čím jsou kuličky větší. Rovněž během přípravy past bylo zjištěno, že příprava pasty je nejjednodušší s nejmenšími mikrokuličkami uhlíku, jelikož promíchání prášku a minerálního oleje je mnohem snazší a rychlejší. Prvním krokem bylo proměření potenciálních oken všech použitých elektrod v prostředích NaOH, KCl, HClO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (všechny 0,1 mol L<sup>-1</sup>) a v Brittonově-Robinsonově (BR) pufru o pH 2, 7 a 12. Potenciálová okna všech tří past z mikrokuliček skelného uhlíku jsou v alkalických prostředích užší než u elektrody ze skelného uhlíku. Elektroda z krystalického grafitu vykazovala nejužší potenciálové okno ze všech použitých elektrod. Elektrochemické vlastnosti elektrod byly zkoumány s využitím metod cyklické voltametrie (CV), DC voltametrie (DCV) a diferenční pulzní voltametrie (DPV) v roztoku hexakvanoželeznanu draselného o různých koncentracích v prostředí 1 mol L<sup>-1</sup> KCl. Pomocí cyklické voltametrie bylo zjištěno, že oxidační proces K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] na všech elektrodách je kontrolován difuzí. Stabilita signálu byla kontrolována z 20 po sobě jdoucích DP voltamogramů v roztoku 1 × 10<sup>-3</sup> mol L<sup>-1</sup> K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] v 1 mol L<sup>-1</sup> KCl. Nejhorší stabilitu prokázala pasta z krystalického uhlíku (RSD 53 %). Všechny tři elektrody z mikrokuliček skelného uhlíku měly signál stabilní s RSD okolo 4,5 %. Kalibrační křivky hexakvanoželeznanu draselného byly proměřeny

v koncentračním rozmezí  $6 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  v prostředí  $1 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ . Meze detekce pro testované elektrody (pro DPV  $L_D = 9,3$  až  $10,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , pro DCV  $L_D = 5,7$  až  $9,9 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ) jsou srovnatelné s mezemi detekce získanými na elektrodě ze skelného uhlíku (DPV  $L_D = 6,1 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , DCV  $L_D = 9,2 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Se snižující se velikostí mikrokuliček skelného uhlíku v použitých pastových elektrodách můžeme pozorovat slabý klesající trend v hodnotách mezi detekce. Všechny proměřené kalibrační křivky byly lineární.

### **Stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na CPES**

K testování elektrod v prostředí s obsahem 50% methanolu a 50% vody byl použit 5A6NQ. Nejdříve byl proměřen vliv pH BR pufru (2–12) na voltametrické chování stanovované látky. Z porovnání voltamogramů 5A6NQ ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) je patrný pokles výšky píku se vzrůstající velikostí mikrokuliček skelného uhlíku v pastové elektrodě nezávisle na hodnotě pH. Nejhorší výsledky byly dosaženy na elektrodě z krystalického uhlíku, čímž se potvrdila její nevhodnost v prostředí s vyšším obsahem organické složky. Jako optimální podmínky pro DCV i DPV byly vybrány BR pufr o pH 10 s methanolem v poměru 1:1 (V/V). Při těchto podmínkách byly proměřeny rovněž cyklické voltamogramy pro 5A6NQ ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) v rozsahu potenciálu 0 až +1,2 V při rychlostech polarizace 2 až  $1000 \text{ mV s}^{-1}$ . Z výsledků plyne, že oxidace 5A6NQ je ireverzibilní pro všechny testované elektrody, je kontrolovaná difuzí pro elektrody z mikrokuliček skelného uhlíku a pro elektrodu z krystalického grafitu je kontrolována jak difuzí, tak adsorpcí. V důsledku vlivu pasivace je nutné u všech testovaných elektrod obnovovat povrch po každém měření. Opakovatelnost byla proměřena pro 5A6NQ ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) a z výsledků vyplývá, že z testovaných elektrod má nejnižší hodnotu relativní směrodatné odchylky (RSD 4,6 %) elektroda z nejmenších mikrokuliček skelného uhlíku a to srovnatelnou s elektrodou ze skelného uhlíku (RSD 4,5 %). Kalibrační křivky 5A6NQ byly proměřeny v koncentračním rozmezí  $1 \times 10^{-6} - 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  v optimálním prostředí. Z výsledků můžeme pozorovat klesající trend v hodnotách mezi detekce se snižující se velikostí mikrokuliček skelného uhlíku v použitých pastových elektrodách. Všechny proměřené kalibrační křivky byly lineární a koeficient determinace byl vysoký.

### 3.2 Stanovení resveratrolu v nažkách, slupkách a listech pohanky tatarské a obecné pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí na uhlíkové pastové elektrodě<sup>28</sup>

Další možné využití výhod uhlíkové pastové elektrody je v amperometrickém detektoru při průtokových metodách (HPLC), kde je CPE použita jako pracovní elektroda v uspořádání typu wall-jet v tříelektrodovém uspořádání spolu s referentní elektrodou (argentchloridovou elektrodou s 3 mol L<sup>-1</sup> KCl) a pomocnou elektrodou (platinovou plíškovou elektrodou). Amperometrický detektor byl v naší práci zapojen sériově za spektrofotometrický detektor, který sloužil jako kontrola a pro porovnání s naším elektrochemickým detektorem. Konec kapiláry ze spektrofotometrického detektoru byl přiveden k povrchu pracovní uhlíkové pastové elektrody, jenž byla s pomocnou a referentní elektrodou umístěna v mobilní fázi. Toto uspořádání má kromě samotných výhod uhlíkové pastové elektrody i výhodu v neustálém omývání povrchu pracovní elektrody mobilní fází, které většinou umožňuje měřit stále na stejném povrchu pracovní elektrody bez obnovování povrchu, jako je většinou nutné u vsádkových voltametrických metod.

Cílem této práce bylo vyvinutí nové HPLC metody s elektrochemickou detekcí a spektrofotometrickou detekcí pro stanovení *trans*-resveratrolu a *cis*-resveratrolu ve vzorcích nažek, slupek a listech pohanky tatarské a obecné. Resveratrol byl mezi dalšími flavonoidy doposud pouze identifikován v mouce pohanky obecné<sup>4</sup>, proto se tato část práce věnovala nejenom vyvinutí metody pro jeho stanovení, ale také zjištění skutečných obsahů obou izomerů resveratrolu ve vzorcích šesti variet pohanky obecné a dvou variet pohanky tatarské.

#### Optimalizace metody

Nejdříve byly zjištěny optimální podmínky pro stanovení standardů *trans*-resveratrolu a *cis*-resveratrolu (standard připraven z *trans*-resveratrolu izomerizací denním světlem po 48 hodin s 85% konverzí<sup>5</sup>). Mobilní fáze obsahující acetonitril a zředěný BR pufr v poměru 1:1 (V/V) umožnila separaci (kolona Kromasil C-18 (7 μm), 125 × 4 mm) obou izomerů resveratrolu ve 4,5 minutách s rozlišením 1,6. Jelikož je separace izomerů nezávislá na hodnotě pH BR pufru v rozmezí pH 3 až 7, byla hodnota pH optimalizována na základě hydrodynamických voltamogramů. Hydrodynamické voltamogramy byly naměřeny v BR pufru o pH 3, 5 a 7 s acetonitrem (1:1, V/V) v rozmezí potenciálů od 0 do +1,4 V. Jako optimální byl vybrán BR pufr o pH 7 s acetonitrem (1:1, V/V) při potenciálu +1,2 V. Optimální vlnová délka pro

spektrofotometrický detektor byla vybrána 306 nm pro *trans*-resveratrol a 286 nm pro *cis*-resveratrol (ze spekter při měření stability zásobních roztoků). Při těchto podmínkách byly proměřeny kalibrační závislosti v koncentračním rozmezí  $4 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ . Meze detekce byly pro *trans*-resveratrol  $L_D = 3,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro elektrochemický detektor,  $L_D = 3,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro spektrofotometrický detektor (306 nm) a pro *cis*-resveratrol  $L_D = 1,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro elektrochemický detektor,  $L_D = 6,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro spektrofotometrický detektor (286 nm). Z výsledků je patrné, že obě detekce jsou srovnatelné pro *trans*-resveratrol a pro *cis*-resveratrol je elektrochemický detektor mírně lepší než detektor spektrofotometrický.

### Reálné vzorky pohanek obecných a tatarských

Prvním krokem této části byla extrakce resveratrolu do ethanolu. Vzorek pohankových nažek (12 g), slupek (4 g) nebo listů (12 g) byl vždy navážen a spolu s 300 mL ethanolu extrahován 2 hodiny pod zpětným tokem, přefiltrován a zakoncentrován za sníženého tlaku na 5 mL koncentrovaného extraktu. Optimalizace separace *cis*- a *trans*-resveratrolu v reálných vzorcích byla provedena změnou složení mobilní fáze (50:50; 40:60; 35:65; 30:70 a 20:80 acetonitril : zředěný BR pufr, V/V) v isokratickém módu. Jako optimální podmínky byly zvoleny mobilní fáze s obsahem acetonitrilu : zředěného BR pufru pH 7 v poměru 30:70 (V/V) pro vzorky nažek a slupek, nebo 20:80 (V/V) pro vzorky listů při potenciálu elektrochemické detekce +1,2 V. *Trans*-resveratrol byl stanoven ve všech reálných vzorcích, ale druhý izomer *cis*-resveratrol nebyl nalezen v žádném analyzovaném vzorku (přítomnost a obsah *trans*-resveratrolu a *cis*-resveratrolu byla zjišťována standardním přídatkem analytu). Obsah *trans*-resveratrolu v nažkách pohanky obecné je u jednotlivých analyzovaných varietách podobný (0,98 – 1,72 mg kg<sup>-1</sup>), ale velký rozdíl byl zaznamenán v porovnání s obsahem analytu v nažkách pohanek tatarských (3,43 – 3,50 mg kg<sup>-1</sup>), kde je téměř trojnásobně větší. Na druhou stranu obsah *trans*-resveratrolu v listech pohanky obecné (1,81 mg kg<sup>-1</sup>) byl téměř desetkrát vyšší než v listech pohanky tatarské (0,19 mg kg<sup>-1</sup>). Nejnižší obsah *trans*-resveratrolu byl stanoven ve slupkách pohanky obecné (0,16 – 0,66 mg kg<sup>-1</sup>).

### 3.3 Elektrochemické vlastnosti a stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na uhlíkových vláknových tyčinkových elektrodách<sup>29</sup>

Uhlíková vláknová tyčinková elektroda (CFRE) patří mezi kompozitní elektrody. Elektroda je vyrobena z uhlíkové vláknové tyčinky, která představuje spojení shodně orientovaných uhlíkových vláken a epoxidové

pryskyřice výrobním procesem nazývaným pultruze. Ač se nejedná o elektrody zcela nové, studium jejich elektrochemických vlastností bylo věnováno poměrně málo<sup>7-10</sup>. Z tohoto důvodu je tato část práce zaměřena na studium elektrochemických vlastností těchto elektrod (porovnávány elektrody o průměru 0,8 mm, 2 mm a 3 mm) s použitím hexakynoželeznanu draselného ve vodném prostředí a následném elektrochemickém stanovení 5A6NQ v anodické i katodické oblasti. Praktické použití je demonstrováno na stanovení 5A6NQ na CFRE v modelových vzorcích pitné a rybníční vody.

### **Elektrochemická charakterizace CFREs**

Jako první byly povrchy připravených CFRE fotografovány pod mikroskopem. Ze získaných obrázků<sup>11</sup> je patrné, že epoxidová pryskyřice se nachází jednak mezi jednotlivými vlákny na průřezu uhlíkové vláknové tyčinky, a jednak po celé délce pokrývá tenkou vrstvou stěny uhlíkové vláknové tyčinky. Z následného měření závislosti výšky DPV píku  $K_4[Fe(CN)_6]$  ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ) v  $1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl na hloubce ponoření (1 – 20 mm) CFRE (průměr 0,8 mm) do měřeného roztoku vyplývá, že elektrochemicky aktivní je pouze konec elektrody a stěny elektrody se elektrochemické reakce neúčastní, pravděpodobně z důvodu dobrého pokrytí nevodivou epoxidovou pryskyřicí. U sestrojených CFRE byl proměřen potenciálový rozsah v roztocích NaOH, KCl,  $HClO_4$ ,  $H_2SO_4$  (všechny  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ) a v Brittonově-Robinsonově (BR) pufru o pH 2, 7 a 12. Získané voltamogramy byly porovnány z výsledky na GCE (2 mm průměr). Šířka potenciálových oken CFRE je téměř srovnatelná s GCE, kromě katodické oblasti v alkalických prostředích, kde je potenciálové okno CFRE užší. Anodický a katodický potenciál píku systému  $K_3[Fe(CN)_6] / K_4[Fe(CN)_6]$  v  $1 \text{ mol L}^{-1}$  KCl je téměř nezávislý na rychlosti polarizace. Ze závislosti výšky píku na rychlosti polarizace v rozsahu 2 až  $1000 \text{ mV s}^{-1}$  vyplývá, že je děj reverzibilní a kontrolován difuzí.

### **Stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na CFREs**

Vývoj metody stanovení 5A6NQ byl zahájen optimalizací podmínek měření. Proměřen byl vliv pH BR pufru v rozsahu 2 až 12 ve směsi s methanolem v poměru 1:1 (V/V) pro DPV a DCV v anodické i katodické oblasti na CFRE o průměru 0,8 mm, 2 mm a 3 mm. Všechny testované elektrody vykazovaly podobné chování. Optimální podmínky pro DPV a DCV v anodické i katodické oblasti byly BR pufr pH 12 s methanolem (1:1, V/V). Efekt pasivace elektrod byl studován metodou DPV v roztoku 5A6NQ

( $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) při optimálních podmínkách. Z výsledků je patrné (20 voltamogramů proměřených za sebou bez obnovení povrchu), že pasivace je významná v anodické oblasti (pokles výšky píku o 28 %). Vyzkoušeny byly různé způsoby regenerace povrchu (jemný brusný papír, alumina, elektrochemická aktivace), ale nejlepší výsledky měla regenerace povrchu CFRE pomocí suspenze aluminu (20 měření za sebou – anodická oblast RSD = 5,5 %, katodická oblast RSD = 2,2 %), proto byla tato regenerace použita i v dalších měřeních.

Při optimálních podmínkách byly proměřeny cyklické voltamogramy 5A6NQ v rozsahu polarizačních rychlostí 2 až 1000 mV s<sup>-1</sup>. Oxidace i redukce 5A6NQ je na CFRE ireverzibilní, řízena difuzí i adsorpcí. Kalibrační závislosti byly proměřeny v koncentračním rozmezí  $4 \times 10^{-7}$  –  $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>. Nejnižší mez detekce byla naměřena na CFRE o průměru 2 mm  $L_D = 4,3 \times 10^{-7}$  mol L<sup>-1</sup> pro katodickou DPV. Nejlepší poměr signálu k šumu měla CFRE o průměru 2 mm.

### Reálné aplikace

Praktické využití elektrody bylo demonstrováno na stanovení 5A6NQ v modelových vzorcích pitné a rybníční vody na CFRE o průměru 2 mm. Výsledné směrnice kalibračních křivek jsou srovnatelné pro měření v deionizované vodě. Meze detekce v pitné a rybníční vodě jsou mírně vyšší, což může být způsobeno vyšším šumem v modelových vzorcích.

### 3.4 Voltametrické a amperometrické stanovení *trans*-resveratrolu na uhlíkové vláknové tyčinkové elektrodě a uhlíkové pastové elektrodě<sup>30</sup>

V této části práce byla vyvinuta nová metoda stanovení *trans*-resveratrolu využívající voltametrické metody (DCV, DPV a AdSDPV) a průtokovou injekční analýzu (FIA) s elektrochemickou detekcí na CFRE a tato byla porovnána se stanovením na CPE a v případě FIA i se spektrofotometrickou detekcí. Praktická aplikace metod byla testována na stanovení *trans*-resveratrolu v pastilkách přípravku Evelor.

### Voltametrické metody

Vliv pH BR pufru byl sledován v rozsahu 2 až 12 s methanolem v poměru 1:1 (V/V) pro DCV, DPV a CV v anodické oblasti na CFRE a CPE. Jako optimální byly zvoleny BR pufr o pH 2 s methanolem (1:1, V/V) pro všechny použité metody pro obě elektrody. Cyklická voltametrie byla proměřena v roztoku *trans*-resveratrolu ( $1 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup>) v rozsahu polarizačních rychlostí 2 až 1000 mV s<sup>-1</sup> pro potenciálový rozsah 0 až +1,5 V.

Oxidace *trans*-resveratrolu je ireverzibilní a kontrolována difuzí na obou elektrodách.

Kalibrační závislosti byly proměřeny v koncentračním rozmezí  $6 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  na CFRE a CPE (obě průměr 2 mm). Kalibrační křivky jsou lineární v celém měřeném rozsahu s obdobnými mezemi detekce v rozmezí  $7,3 - 9,7 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .

Akumulace analytu na povrchu CFRE a CPE byla sledována s cílem zvýšit citlivost metody. Akumulace byla sledována v roztoku *trans*-resveratrolu ( $8 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ) při potenciálech akumulace v rozsahu 0 až 0,6 V s dobou akumulace od 30 s do 10 min v prostředí BR pufru o pH (2, 7, 10 a 12) vždy ve směsi s methanolem v poměru (95:5, V/V). Na CPE nebyla pozorována významná akumulace, a to na rozdíl od CFRE, kde byla akumulace významná a jako optimální podmínky akumulace byly vybrány BR pufr pH 10 s methanolem (95:5, V/V) při potenciálu 100 mV po dobu 10 min. Při těchto podmínkách byla pomocí AdSDPV naměřena kalibrační závislost v koncentračním rozmezí  $1 \times 10^{-7} - 1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  na CFRE. Mez detekce byla  $2,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ .

### **Průtoková injekční analýza**

Optimální podmínky stanovení *trans*-resveratrolu pomocí FIA na CFRE a CPE (obě s průměrem 3 mm) byly zvoleny z naměřených hydrodynamických voltamogramů v rozsahu potenciálů od +0,1 do +1,6 V v prostředí BR pufru o pH 2 až 12 s methanolem (1:1, V/V). Nejvyšší a nejlépe vyvinutý signál byl získán v prostředí BR pufr pH 10 s methanolem (1:1, V/V) při potenciálu +1,0 V na CFRE i CPE. Vliv průtokové rychlosti byl proměřen v rozsahu od 1 do 7 mL min<sup>-1</sup>. Jako optimální průtoková rychlost byla zvolena rychlost 3 mL min<sup>-1</sup>. Stabilita a opakovatelnost signálu byla testována desetnásobným nadávkováním roztoku *trans*-resveratrolu ( $1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ) při optimálních podmínkách. Relativní standardní odchylka měření byla 4,5 % pro CFRE, 5,4 % pro CPE a 2,3 % pro spektrofotometrický detektor (306 nm).

Kalibrační závislosti byly proměřeny v koncentračním rozmezí  $8 \times 10^{-8} - 1 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  na obou elektrodách. Dosažené meze detekce pro FIA s elektrochemickou detekcí byly  $L_D = 9,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro CFRE,  $L_D = 5,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$  pro CPE a  $L_D = 8,3 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro spektrofotometrickou detekci.

### **Reálné vzorky**

Praktické využití vyvinutých metod bylo testováno na pastilkách Eveloru s deklarovaným obsahem *trans*-resveratrolu 50 mg v každé pastilce. Stanovení *trans*-resveratrolu bylo provedeno metodou standardního přídávku (tři přídávky) při zjištěných optimálních podmínkách vyvinutými metodami (DPV, FIA) na CFRE a porovnáno s výsledky získanými voltametrií na CPE, spektrofotometrií a pomocí FIA na CPE a spektrofotometrickou detekcí (306 nm). Všechny obdržené výsledky z analýzy tří tablet Evelor jsou v dobré shodě s deklarovaným obsahem *trans*-resveratrolu.



## 4. ZÁVĚR

Předkládaná disertační práce se zabývá vývojem elektrochemických metod především pro stanovení *cis*- a *trans*-resveratrolu na uhlíkové pastové elektrodě a uhlíkové vláknové tyčinkové elektrodě a porovnáním vlastností obou typů elektrod. Jelikož oba izomery resveratrolu jsou citlivé na světlo, byl pro testování vlastností použitých elektrod využit hexakvanoželeznatan draselný a 5-amino-6-nitrochinolin (5A6NQ), který navíc umožňuje otestování elektrod i v katodických oblastech potenciálů. Využité byly metody voltametrické (DCV, DPV, CV, AdSDPV), FIA i HPLC s elektrochemickou a spektrofotometrickou detekcí. Práce je založena na připojených čtyřech vědeckých publikacích<sup>27-30</sup>.

Všechny získané výsledky můžeme shrnout do následujících bodů:

- Z testovaných uhlíkových pastových elektrod s obsahem mikrokuliček skelného uhlíku s průměry 0,4 – 12 μm, 10 – 20 μm, 20 – 50 μm vychází elektroda s nejmenšími mikrokuličkami jako elektroda s nejlepšími elektrochemickými vlastnostmi (nejnižší mez detekce, opakovatelnost 4,6 %).
- Byla optimalizovaná metoda HPLC stanovení resveratrolu. Optimální byla mobilní fáze o složení BR pufr o pH 7 s acetonitrem (1:1, V/V) při potenciálu elektrochemické detekce +1,2 V na CPE. Optimální vlnová délka pro spektrofotometrický detektor byla 306 nm pro *trans*-resveratrol a 286 nm pro *cis*-resveratrol. Meze detekce byly pro *trans*-resveratrol  $L_D = 3,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro elektrochemický detektor,  $L_D = 3,2 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro spektrofotometrický detektor (306 nm) a pro *cis*-resveratrol  $L_D = 1,8 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro elektrochemický detektor,  $L_D = 6,5 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$  pro spektrofotometrický detektor (286 nm).
- Byla vyvinuta nová HPLC metoda pro stanovení resveratrolu (*trans*-, *cis*-) v nážkách, slupkách a listech pohanky obecné a tatarské pomocí elektrochemického detektoru s CPE. Optimální podmínky byly mobilní fáze acetonitril: zředěný BR pufr pH 7 v poměru 30:70 (V/V) pro vzorky nážek a slupek, nebo 20:80 (V/V) pro vzorky listů při potenciálu elektrochemického detektoru + 1,2 V (CPE).
- Z připravených CFRE (0,8 mm, 2 mm a 3 mm) má nejlepší výsledky při stanovení 5A6NQ CFRE o průměru 2 mm (DPV  $L_D = 4,3 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ). Oxidace i redukce 5A6NQ je na CFRE ireverzibilní, řízena difuzí i adsorpcí. Praktické stanovení bylo úspěšně demonstrováno na

stanovení 5A6NQ v modelových vzorcích pitné a rybníční vody na CFRE o průměru 2 mm.

- Byly vyvinuty jednoduché, citlivé voltametrické a FIA metody pro stanovení *trans*-resveratrolu na CFRE. Optimální podmínky byly BR pufr pH 2 s methanolem (1:1, V/V) pro voltametrické metody (kromě AdSDPV) a BR pufr o pH 10 s methanolem (1:1, V/V) při pracovním potenciálu +1,0 V nebo 306 nm pro FIA.
- Na CPE nebyla pozorována významná akumulace *trans*-resveratrolu, a to na rozdíl od CFRE, kde byly vybrány optimální podmínky akumulace BR pufr pH 10 s methanolem (95:5, V/V) při potenciálu 100 mV po dobu 10 min ( $L_D = 2,2 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ ).
- Vyvinuté voltametrické a FIA metody stanovení *trans*-resveratrolu na CFRE byly úspěšně aplikovány na farmaceutický přípravek Evelor (deklarovaný obsah *trans*-resveratrolu 50 mg). Stanovený obsah se pro všechny použité metody (DPV na CPE a CFRE, spektrometrie, FIA s elektrochemickou detekcí na CPE a CFRE a spektrofotometrickou detekcí) pohyboval v rozpětí od 49,0 do 50,9 mg.

## 5. POUŽITÁ LITERATURA

1. M. J. Takaoka, Of the phenolic substances of white hellebore (*Veratrum grandiflorum* Loes. Fil.), *J. Faculty Sci. Hokkaido Imperial Univ.*, 3 (1940): 1-16.
2. P. Langcake, R. J. Pryce, Production of resveratrol by *Vitis-vinifera* and other members of vitaceae as a response to infection or injury, *Phys. Plant Pathol.*, 9 (1976): 77-86.
3. M. L. Burr, Explaining the French paradox, *J. Roy. Soc. Health*, 115 (1995): 217-219.
4. B. C. Trela, A. L. Waterhouse, Resveratrol: isomeric molar absorptivities and stability, *J. Agric. Food Chem.*, 44 (1996): 1253-1257.
5. J. Lopez-Hernandez, P. Paseiro-Losada, A. T. Sanches-Silva, M. A. Lage-Yusty, Study of the changes of *trans*-resveratrol caused by ultraviolet light and determination of *trans*- and *cis*-resveratrol in Spanish white wines, *Eur. Food Res. Technol.*, 225 (2007): 789-796.
6. J. Šmidrkal, V. Filip, K. Melzoch, I. Hanzlíková, D. Buckiová, B. Křisa, Resveratrol, *Chem. Listy*, 95 (2001): 602-609.
7. J. Y. Qian, D. Mayer, M. Kuhn, Flavonoids in fine buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mönch) flour and their free radical scavenging activities, *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.*, 95 (1999): 343-349.
8. L. Pirola, S. Frojdo, Resveratrol: one molecule, many targets, *Life*, 60 (2008): 323-332.
9. B. B. Aggarwal, S. Shishodia, *Resveratrol in health and disease*, eds. Boca Raton, Taylor & Francis Group, 2006. ISBN: 0-8493-3371-7.
10. D. Delmas, B. Jannin, N. Latruffe, Resveratrol: preventing properties against vascular alterations and ageing, *Mol. Nutr. Food Res.*, 49 (2005): 377-395.
11. E. H. Siemann, L. L. Creasy, Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine, *Am. J. Enol. Vitic.*, 43 (1992): 49-52.
12. R. H. Liu, J. Y. Zhang, M. J. Liang, W. D. Zhang, S. K. Yan, M. Lin, Simultaneous analysis of eight bioactive compounds in Danning tablet by HPLC-ESI-MS and HPLC-UV, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 43 (2007): 1007-1012.
13. R. Lopez, P. Dugo, L. Mondello, Determination of *trans*-resveratrol in wine by micro-HPLC with fluorescence detection, *J. Sep. Sci.*, 30 (2007): 669-672.
14. I. Kolouchova-Hanzlikova, K. Melzoch, V. Filip, J. Smidrkal, Rapid method for resveratrol determination by HPLC with electrochemical and UV detections in wines, *Food Chem.*, 87 (2004): 151-158.

15. E. G. Fan, S. Lin, D. L. Du, Y. J. Jia, L. Kang, K. Zhang, Current separative strategies used for resveratrol determination from natural sources, *Anal. Sci.*, 3 (2011): 2454-2462.
16. S. Orlandini, L. Giannini, S. Pinzauti, S. Furlanetto, Multivariate optimization and validation of a capillary electrophoresis method for the analysis of resveratrol in a nutraceutical, *Talanta*, 74 (2008): 570-557.
17. M. P. Gonzalez, H. G. Diaz, M. A. Cabrera, R. M. Ruiz, A novel approach to predict a toxicological property of aromatic compounds in the *Tetrahymena pyriformis*, *Bioorg. Med. Chem.*, 12 (2004): 735-744.
18. F. E. Goda, A. Aziz, H. A. Ghoneim, Synthesis and biological evaluation of novel 6-nitro-5-substituted aminoquinolines as local anesthetic and anti-arrhythmic agents, *Bioorg. Med. Chem.*, 13 (2005) 3175-3183.
19. M. Karramkam, F. Dolle, W. Valette, L. Basret, Y. Bromouille, F. Hinnen, F. Vaufrey, C. Franklin, S. Bourg, C. Coulon, M. Ottaviani, M. Delaforge, C. Loch, M. Bottlaender, C. Crouzel, Synthesis of a fluorine-18-labelled of 6-nitroquipazine, as a radioligand for the in vivo serotonin transporter imaging with PET, *Bioorg. Med. Chem.*, 10 (2002): 2611-2623.
20. K. W. Cheng, F. Chen, M. F. Wang, Heterocyclic amines: chemistry and health, *Mol. Nutr. Food Res.*, 50 (2006): 1150-1170.
21. M. Murkovic, Analysis of heterocyclic aromatic amines, *Anal. Bioanal. Chem.*, 389 (2007): 139-146.
22. L. L. Okumura, N. R. Stradiotto, Simultaneous determination of quinoline and pyridine compounds in gasoline and diesel by differential pulse voltammetry, *Electroanalysis*, 19 (2007): 709-716.
23. T. A. Sasaki, J. M. Wilkins, J. B. Forehand, S. C. Moldoveanu, Analysis of heterocyclic amines in mainstream cigarette smoke using a new NCI GC-MS technique, *Anal. Lett.*, 34 (2001): 1749-1761.
24. **L. Němcová**, Stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu pomocí HPLC s elektrochemickou detekcí, *Bakalářská práce*, UK, Praha (2006).
25. **L. Němcová**, Stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na uhlíkové pastové elektrodě, *Diplomová práce*, UK, Praha (2008).
26. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek, Determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon paste electrode, *Collect. Czech. Chem. Commun.*, 74 (2009): 1477-1488.
27. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima, A Voltammetric Comparison of the Properties of Carbon Paste Electrodes Containing Glassy Carbon Microparticles of Various Sizes, *J. Electroanal. Chem.*, 675 (2012):18-24.

28. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek, D. Janovská, Determination of resveratrol in grains, hulls and leaves of common and tartary buckwheat by HPLC with electrochemical detection at carbon paste electrode, *Food Chem.*, 126 (2011): 374-378.
29. **L. Němcová**, H. Dejmková, J. Barek, J. Zima, Voltammetric determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon fiber rod electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 6 (2011): 6373-6384.
30. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima, Determination of *trans*-resveratrol using voltammetric and amperometric methods at carbon fiber rod electrode and carbon paste electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012): 9221-9231.

## 6. CURRICULUM VITAE

Jméno a příjmení: Lenka Němcová  
Datum narození: 17.10.1983  
Místo narození: Praha

### Vzdělání

2008 – dosud **Univerzita Karlova v Praze**, PřF, obor analytická chemie  
- Státní doktorská zkouška absolvována dne 11.11.2010  
2006 – 2008 **Univerzita Karlova v Praze**, PřF, obor analytická chemie  
- získán titul Mgr.  
2003 – 2006 **Univerzita Karlova v Praze**, PřF, obor analytická chemie  
- získán titul Bc.  
1999 – 2003 **Masarykova střední škola chemická**, Praha  
- obor analytická chemie

### Praxe

- Pokročilé praktikum z analytické chemie
- Projekt Otevřená věda II (Voltametrické stanovení daponu na elektrodách na bázi uhlíku, 2010 - 2012)
- Konzultant bakalářských prací (Barbora Fährnichová, Jarošová Romana)
- Částečný úvazek v Energocentrum plus s.r.o. - laboratorní rozbor kotelních vod v objektech VFN (2009 - dosud)
- Místopředseda výboru SVJ Mírového hnutí 868-9 (32 b.j., od dubna 2012)

## 7. SEZNAM PUBLIKACÍ

### A) Publikace v časopisech

1. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima: Determination of *trans*-resveratrol using voltammetric and FIA methods at carbon fiber rod electrode and carbon paste electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **7**, 9221-9231, 2012. (IF = 2,808)
2. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima: A Comparison of the Properties of Carbon Paste Electrodes Containing Glassy Carbon Microparticles of Various Sizes, *J. Electroanal. Chem.*, **675**, 18-24, 2012. (IF = 2,732)
3. **L. Němcová**, H. Dejmková, J. Barek, J. Zima: Voltammetric Determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon fiber rod electrode, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **6**, 6373-6384, 2011. (IF = 2,808)
4. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek, D. Janovská: Determination of resveratrol in grains, hulls and leaves of common and tartary buckwheat by HPLC with electrochemical detection at carbon paste electrode, *Food Chem.*, **126**, 374-378, 2011. (IF = 3,458)
5. J. Zima, J. Barek, **L. Němcová**, H. Dejmková: Determination of selected biologically active organic compounds at carbon paste electrodes, *Sensing in Electroanalysis* **5**, 175-183, 2010.
6. J. Zima, H. Dejmková, **L. Němcová**: Praktické aplikace uhlíkových pastových elektrod, *Chem. Listy* **104**, s528-s532, 2010. (IF = 0,620)
7. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Determination of resveratrol in common buckwheat and tartary buckwheat using HPLC-ED with a carbon paste electrode, *Chem. Listy* **104**, s687-s692, 2010. (IF = 0,620)
8. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon paste electrode, *Collect. Czech. Chem. Commun.* **74** (10), 1477-1488, 2009. (IF = 0,824)

## B) Orální prezentace

1. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Voltammetric and HPLC methods in the determination of *cis*- and *trans*-resveratrol, sborník: Proceedings of the 6th International Students Conference "Modern Analytical Chemistry", str. 109-113 Karlova Univerzita v Praze – Přírodovědecká fakulta, Praha 2010, ČR, ISBN: 978-80-7444-005-2.
2. J. Zima, **L. Němcová**, H. Dejmková: Carbon paste based sensors for monitoring of biologically active organic compounds, 43rd World Chemistry Congress; Chemistry Bridging Innovation Among the Americans and the World, San Juan 2011, Portoriko USA, 415-416, ISBN: 978-0-615-52557-0.
3. J. Barek, A. Daňhel, H. Dejmková, D. Deýlová, J. Fischer, V. Novotný, **L. Němcová**, V. Vyskočil, O. Yosypchuk, J. Zima: Nové směry v elektroanalytické chemii biologicky aktivních látek, 63.zjazd chemikov, Tatranské Matliare, Slovenská Republika, str.71.
4. **L. Němcová**, B. Fährnichová, R. Jarošová, J. Zima, J. Barek: Determination of natural antioxidants at a carbon paste electrode, XXX. Moderní Elektroanalytické metody - Sborník přednášek, str. 124-128, BEST Servis, Jeřichovice 2010, ČR, ISBN: 978-80-254-6710-7.
5. J. Zima, H. Dejmková, **L. Němcová**: Praktické aplikace uhlíkových pastových elektrod, ACP-Súčasný stav a perspektivy analytické chémie v praxi, Bratislava 2010, Slovensko (*Chem. Listy* 104, s528-s532, 2010).
6. J. Zima, **L. Němcová**, Z. Jemelková, H. Dejmková, J. Barek: Carbon pastes in analysis of organic compounds, Sborník Moderní analytické metody 2009 – *Chem. Listy* 103, 253-253, 2009, ISSN 0009-2770.
7. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Determination of *trans*-resveratrol on carbon paste electrode, Sborník – 5th ISC Modern Analytical Chemistry, str. 63-66, Karlova Univerzita v Praze – Přírodovědecká fakulta, Praha 2009, ČR, ISBN 978-80-86561-41-7.
8. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima: Stanovení 5-amino-6-nitrochinolinu na uhlíkové pastové elektrodě, Moderní elektrochemické metody – Sborník přednášek



XXIX. mezinárodní konference, str. 77-81, BEST Servis, Jetřichovice 2009, ĀR, ISBN 978-80-254-3997-5.

### C) Seznam plakátů

1. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Porovnání uhlíkových pastových elektrod vyrobených z různě velkých mikrokuliček skelného uhlíku, 63.ĀSCHS, Tatranské Matliare 2011, Slovensko, 1Po43, CemZi 7/13, str.162-163, 2011, ISSN: 1336-7242.
2. **L. Němcová**, H. Dejmková, J. Zima, J. Barek: Voltammetric determination of 5-amino-6-nitroquinoline at a carbon fiber rod electrode, 14th Austrian Chemistry Days, Linz 2011, Rakousko, sborník - PO-38.
3. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Voltammetric and FIA methods for the determination of *trans*-resveratrol at a carbon fiber rod electrode and a carbon paste electrode, The 7th International Conference on Instrumental Methods of Analysis Modern Trends and Applications, Chania Kréta 2011, Řecko, sborník - PP210.
4. H. Dejmková, D. Baval, **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima: Utilization of carbon fibre rod composite electrode for the determination of pesticide dichloran, The 7th International Conference on Instrumental Methods of Analysis Modern Trends and Applications, Chania Kréta 2011, Řecko, sborník - PP215.
5. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Voltametrické a amperometrické stanovení resveratrolu, 62.ĀSCHS, Pardubice 2010, ĀR (3P-19, Chem. Listy 104, 458, 2010).
6. **L. Němcová**, J. Zima, J. Barek: Determination of resveratrol in common buckwheat and tartary buckwheat using HPLC-ED with a carbon paste electrode, ACP-Súčasný stav a perspektivy analytické chémie v praxi, Bratislava 2010, Slovensko (*Chem. Listy* 104, s687-s692, 2010).
7. **L. Němcová**, J. Barek, J. Zima: Determination of *trans*-resveratrol using HPLC with elektrochemical detection, 61. ĀSCHS, ChemZi 5/9, str. 135-135, Slovenská chemická spoločnosť, Tatranské Matliare 2009, Slovensko, ISSN 1336-7242.